

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS

E.A.P. DE CIENCIAS BIOLOGICAS

**“Interacciones tróficas del parasitoide *Chrysocharis flacilla*
Walker (Hymenoptera: Eulophidae) sobre *Liriomyza*
huidobrensis Blanchard y *L. graminivora* Hering (Diptera:
Agromyzidae)”**

TESIS

Tesis para optar al Título Profesional de Biólogo con mención en Zoología

AUTOR

Aldo Manuel Yactayo Flores

Lima-Perú

2015



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA ACADEMICO PROFESIONAL DE

CIENCIAS BIOLÓGICAS

Interacciones tróficas del parasitoide *Chrysocharis flacilla*

Walker (Hymenoptera: Eulophidae) sobre *Liriomyza*

huidobrensis Blanchard y *L. graminivora* Hering (Diptera:

Agromyzidae)

Tesis para optar al Título Profesional de Biólogo con mención en
Zoología

Bach. ALDO MANUEL YACTAYO FLORES

Asesora: NORBERTA MARTÍNEZ LUJÁN

Lima – Perú

2015

A mi amada madre Andrea Flores Espinoza, por su enorme amor, apoyo, cuidado y sacrificio, para lograr mi desarrollo personal.

A mí amada abuela Delia Espinoza Simon, por su enorme amor y cuidado. En su memoria

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. Norma Mujica Morón por permitirme conocer y estudiar una maravillosa parte de la entomología a través de su proyecto de investigación en la cual se encuentra enmarcada esta tesis, asimismo, hago presente que siempre estaré agradecido por sus valiosas enseñanzas, exigencia, guía y apoyo durante el desarrollo y redacción de la misma.

Agradezco a la Blga. Norberta Martínez Luján por sus valiosas enseñanzas e incondicional apoyo durante mi etapa universitaria y en especial durante la redacción de esta tesis.

También deseo agradecer al Dr. Min Kwon por su amistad y consejos y a los amigos del CIP a quienes aprecio mucho: Dr. Kroschel, Octavio, Ing. Jesus Alcázar, Verónica, Jesús, Carlos, Francisco, Antonio, Jacqueline, Pablo, Jaris, Kyeung y Tseung. Por todos aquellos pequeños momentos agradables que pase con ustedes.

Agradezco profundamente a mi familia, en especial a mi querida madre y amiga Andrea Flores Espinoza, por acompañarme en cada momento del hermoso y especial camino que he recorrido hasta culminar con este trabajo científico. Finalmente, también agradezco mi padre Isidro Yactayo Almeida y a mi hermano Omar Yactayo Flores.

A todos ustedes con todo mi aprecio y cariño, sinceramente MUCHAS GRACIAS!

INDICE GENERAL

1	INTRODUCCION.....	1
2	MARCO TEORICO.....	4
2.1	Los minadores de hojas de la familia Agromyzidae:	4
2.1.1	Origen y distribución geográfica de la mosca minadora <i>Liriomyza huidobrensis</i>	4
2.1.2	Descripción y estados de desarrollo.....	5
2.1.3	Origen y distribución geográfica de la mosca minadora del maíz <i>Liriomyza graminívor</i>	6
2.2	Parasitoidismo y parasitoides	7
2.2.1	Generalidades del parasitoide <i>Chrysocharis flacilla</i>	8
2.3	Control biológico.....	10
2.3.1	Control biológico de conservación	10
2.3.2	El sistema de crianza abierto de parasitoides	11
2.4	Interacciones parasitoide – plaga – planta	12
2.5	Pruebas de Elección y No Elección	14
2.6	Parámetros biológicos de los parasitoides himenópteros en estudio.....	15
2.6.1	Longevidad	15
2.6.2	Supervivencia.....	15
2.6.3	Producción de progenie.....	15
2.6.4	Proporción sexual.....	15
2.6.5	Tamaño de tibias posteriores	16
3	HIPOTESIS Y OBJETIVOS	17
3.1	Hipótesis.....	17
3.2	Objetivos.....	17
4	MATERIAL Y METODOS.....	18
4.1	MATERIALES	18
4.1.1	Material biológico.....	18
4.1.2	Material de laboratorio	18
4.2	METODOS.....	19
4.2.1	Procedimientos de desarrollo	19
4.2.2	Procedimientos de experimentación	28

4.2.3	Procedimiento de análisis e interpretación de resultados.....	35
5	RESULTADOS.....	36
5.1	Pruebas de No Elección	36
5.1.1	Longevidad	36
5.1.2	Curvas de supervivencia	38
5.1.3	Producción de progenie.....	40
5.1.4	Curvas de fecundidad.....	43
5.1.5	Proporción sexual.....	47
5.2	Pruebas de Elección.....	48
5.2.1	Longevidad	48
5.2.2	Curvas de supervivencia	49
5.2.3	Producción de progenie.....	49
5.2.4	Curvas de fecundidad.....	51
5.2.5	Proporción sexual.....	56
5.3	Comparación de parámetros biológicos de <i>C. flacilla</i> entre las pruebas de Elección versus No elección	56
5.3.1	Comparación de la longevidad de <i>C. flacilla</i>	56
5.3.2	Comparación de la fecundidad de <i>C. flacilla</i>	58
5.4	Tamaño de tibia posterior	59
6	DISCUSION.....	61
7	CONCLUSIONES	69
8	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	69

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

TABLA Nº 1 ANCHO DE MINA (MM) CORRESPONDIENTE A LOS DIFERENTES ESTADÍOS LARVALES DE <i>L. HUIDOBRENSIS</i>	26
TABLA Nº 2 PROPORCIÓN SEXUAL DE LOS SISTEMAS DE PROCEDENCIA DE <i>C. FLACILLA</i> EN CADA ASOCIACIÓN PLANTA – MINADOR. LOS VALORES QUE PRESENTAN LETRAS DIFERENTES, SON DIFERENTES SIGNIFICATIVAMENTE.	47
TABLA Nº 3 TAMAÑO PROMEDIO DE LAS TIBIAS POSTERIORES (μM) DE LA DESCENDENCIA HEMBRAS Y MACHOS DE LAS TRES PROCEDENCIAS ESTUDIADAS DEL PARASITOIDE <i>C. FLACILLA</i> EN CADA UNA DE LAS ASOCIACIONES PLANTA-MINADOR EVALUADAS. N: NÚMERO DE PARASITOIDES QUE FUERON MEDIDOS EN SUS TIBIAS POSTERIORES.....	60

FIGURAS

FIGURA Nº 1 ADULTO DE LA MOSCA MINADORA <i>LIRIOMYZA HUIDOBRENSIS</i> (A) Y HOJA DE FRIJOL CON DAÑO EN FORMA DE MINAS SERPENTEADAS PRODUCIDO POR LAS LARVAS (B).....	6
FIGURA Nº 2 ADULTO DE LA MOSCA MINADORA <i>LIRIOMYZA GRAMINIVORA</i> (A) Y HOJA DE MAÍZ CON DAÑO EN FORMA DE MINAS LINEALES PRODUCIDO POR LAS LARVAS (B).....	7
FIGURA Nº 3 VISTA DORSAL Y LATERAL DEL ADULTO DEL PARASITOIDE <i>CHRYSOCHARIS FLACILLA</i>	9
FIGURA Nº 4 ESQUEMA DEL TRATAMIENTO DE LAS SEMILLAS Y PROPAGACIÓN DE LAS PLANTAS DE PAPA, MAÍZ Y HABA.....	21
FIGURA Nº 5 ESQUEMA DE LA CRÍA MASIVA DE LA MOSCA MINADORA <i>L. HUIDOBRENSIS</i>	24
FIGURA Nº 6 ESQUEMA DE LA CRÍA MASIVA DE LA MOSCA MINADORA <i>L. GRAMINIVORA</i>	25
FIGURA Nº 7 HOJA DE HABA MOSTRANDO LA CORRESPONDENCIA DEL ANCHO DE MINA CON LOS DIFERENTES ESTADÍOS LARVALES DEL MINADOR.	26
FIGURA Nº 8 ESQUEMA DE LA CRIANZA MASIVA DEL PARASITOIDE <i>C. FLACILLA</i> EN HABA.	27
FIGURA Nº 9 ESQUEMA DE LOS TRES SISTEMAS TRÓFICOS PLANTA-MINADOR-PARASITOIDE IMPLEMENTADOS PARA LA REALIZACIÓN DE LOS BIOENSAYOS.	28
FIGURA Nº 10 ESQUEMA DE UNA PRUEBA DE NO ELECCIÓN	30
FIGURA Nº 11 ESQUEMA DE UNA PRUEBA DE ELECCIÓN	31
FIGURA Nº 12 ESQUEMA DE LOS BIOENSAYOS REALIZADOS EN LOS TRES SISTEMAS TRÓFICOS PLANTA-MINADOR-PARASITOIDE ESTUDIADOS.	33
FIGURA Nº 13 PROMEDIO DE VIDA EN DÍAS DEL ADULTO DE <i>C. FLACILLA</i> SEGÚN EL SISTEMA DE PROCEDENCIA.	37
FIGURA Nº 14 PROMEDIO DE VIDA EN DÍAS DEL ADULTO DE <i>C. FLACILLA</i> SEGÚN LA ASOCIACIÓN PLANTA – MINADOR.....	37
FIGURA Nº 15 PROMEDIO DE VIDA EN DÍAS DEL ADULTO DE <i>C. FLACILLA</i> SEGÚN LA INTERACCIÓN DE AMBOS FACTORES.....	37

FIGURA Nº 16 CURVAS DE SUPERVIVENCIA DE <i>C. FLACILLA</i> DE PROCEDENCIA HABA – <i>L. HUIDOBRENSIS</i> SOBRE LAS TRES ASOCIACIONES PLANTA - MINADOR EVALUADAS.....	39
FIGURA Nº 17 CURVAS DE SUPERVIVENCIA DE <i>C. FLACILLA</i> DE PROCEDENCIA PAPA – <i>L. HUIDOBRENSIS</i> SOBRE LAS TRES ASOCIACIONES PLANTA - MINADOR EVALUADAS.....	39
FIGURA Nº 18 CURVAS DE SUPERVIVENCIA DE <i>C. FLACILLA</i> DE LA PROCEDENCIA MAÍZ – <i>L. GRAMINIVORA</i> SOBRE LAS TRES ASOCIACIONES PLANTA - MINADOR EVALUADAS.....	39
FIGURA Nº 19 PROGENIE PROMEDIO DE LOS ADULTOS DE <i>C. FLACILLA</i> SEGÚN EL SISTEMA DE PROCEDENCIA.	42
FIGURA Nº 20 PROGENIE PROMEDIO DE LOS ADULTOS DE <i>C. FLACILLA</i> SEGÚN LA ASOCIACIÓN PLANTA – MINADOR.	42
FIGURA Nº 21 PROGENIE PROMEDIO DE LOS ADULTOS DE <i>C. FLACILLA</i> SEGÚN LA INTERACCIÓN DE AMBOS FACTORES.	42
FIGURA Nº 22 CURVAS DE FECUNDIDAD DE LA PROCEDENCIA DE <i>C. FLACILLA</i> HABA – <i>L. HUIDOBRENSIS</i> SOBRE LAS TRES ASOCIACIONES PLANTA - MINADOR EVALUADAS.....	45
FIGURA Nº 23 CURVAS DE FECUNDIDAD DE PROCEDENCIA DE <i>C. FLACILLA</i> PAPA – <i>L. HUIDOBRENSIS</i> SOBRE LAS TRES ASOCIACIONES PLANTA - MINADOR EVALUADAS.....	45
FIGURA Nº 24 CURVAS DE FECUNDIDAD DE LA PROCEDENCIA DE <i>C. FLACILLA</i> MAÍZ – <i>L. GRAMINIVORA</i> SOBRE LAS TRES ASOCIACIONES PLANTA - MINADOR EVALUADAS.....	45
FIGURA Nº 25 CURVAS DE PROGENIE ACUMULADA DE LA PROCEDENCIA DE <i>C. FLACILLA</i> : HABA – <i>L. HUIDOBRENSIS</i> SOBRE LAS TRES ASOCIACIONES PLANTA - MINADOR EVALUADAS.....	46
FIGURA Nº 26 CURVAS DE PROGENIE ACUMULADA DE LA PROCEDENCIA DE <i>C. FLACILLA</i> : PAPA – <i>L. HUIDOBRENSIS</i> SOBRE LAS TRES ASOCIACIONES PLANTA - MINADOR EVALUADAS.....	46
FIGURA Nº 27 CURVAS DE PROGENIE ACUMULADA DE LA PROCEDENCIA DE <i>C. FLACILLA</i> : MAÍZ – <i>L. GRAMINIVORA</i> SOBRE LAS TRES ASOCIACIONES PLANTA - MINADOR EVALUADAS.....	46

FIGURA Nº 28 NÚMERO PROMEDIO DE VIDA EN DÍAS DE LOS ADULTOS DE <i>C. FLACILLA</i> EN TRES DIFERENTES SISTEMAS DE PROCEDENCIA DEL ADULTO EN PRUEBAS DE ELECCIÓN.	48
FIGURA Nº 29 CURVAS DE SUPERVIVENCIA DE <i>C. FLACILLA</i> EN TRES DIFERENTES SISTEMAS DE PROCEDENCIA DEL ADULTO EN PRUEBAS DE ELECCIÓN.	49
FIGURA Nº 30 PROGENIE PROMEDIO DE <i>C. FLACILLA</i> EXPUESTA A TRES ASOCIACIONES PLANTA-MINADOR EN CADA SISTEMA DE PROCEDENCIA.	51
FIGURA Nº 31 NIVELES DE PROGENIE DE <i>C. FLACILLA</i> EN PORCENTAJE EN LAS TRES ASOCIACIONES PLATA – MINADOR POR CADA SISTEMA DE PROCEDENCIA .	51
FIGURA Nº 32 COMPARACIÓN DE CURVAS DE FECUNDIDAD DE LAS TRES PROCEDENCIAS DE <i>C. FLACILLA</i> EN LAS PRUEBAS DE ELECCIÓN.	53
FIGURA Nº 33 COMPARACIÓN DE CURVAS DE PROGENIE ACUMULADA DE LAS TRES PROCEDENCIAS DE <i>C. FLACILLA</i> EN LAS PRUEBAS DE ELECCIÓN.	53
FIGURA Nº 34 CURVAS DE FECUNDIDAD DE LA PROCEDENCIAS DE <i>C. FLACILLA</i> : HABA– <i>L. HUIDOBRENSIS</i> SOBRE LAS TRES ASOCIACIONES PLANTA-MINADOR EVALUADAS.	55
FIGURA Nº 35 CURVAS DE FECUNDIDAD DE LA PROCEDENCIAS DE <i>C. FLACILLA</i> : PAPA– <i>L. HUIDOBRENSIS</i> SOBRE LAS TRES ASOCIACIONES PLANTA-MINADOR EVALUADAS.	55
FIGURA Nº 36 CURVAS DE FECUNDIDAD DE LA PROCEDENCIA DE <i>C. FLACILLA</i> : MAÍZ– <i>L. GRAMINIVORA</i> SOBRE LAS TRES ASOCIACIONES PLANTA-MINADOR EVALUADAS.	55
FIGURA Nº 37 COMPARACIÓN DE LOS NIVELES PROMEDIO DE LA LONGEVIDAD DE <i>C. FLACILLA</i> ENTRE LAS PRUEBAS DE ELECCIÓN VS NO ELECCIÓN PARA LA PROCEDENCIA: HABA – <i>L. HUIDOBRENSIS</i> .	57
FIGURA Nº 38 COMPARACIÓN DE LOS NIVELES PROMEDIO DE LA LONGEVIDAD DE <i>C. FLACILLA</i> ENTRE LAS PRUEBAS DE ELECCIÓN VS NO ELECCIÓN PARA LA PROCEDENCIA: PAPA – <i>L. HUIDOBRENSIS</i> .	57
FIGURA Nº 39 COMPARACIÓN DE LOS NIVELES PROMEDIO DE LA LONGEVIDAD DE <i>C. FLACILLA</i> ENTRE LAS PRUEBAS DE ELECCIÓN VS NO ELECCIÓN PARA LA PROCEDENCIA: MAÍZ – <i>L. GRAMINIVORA</i> .	57

FIGURA Nº 40 COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE PRODUCCION DE PROGENIE DE <i>C. FLACILLA</i> DE LAS PRUEBAS DE ELECCIÓN VS NO ELECCIÓN PARA LA PROCEDENCIA:	
HABA – <i>L. HUIDOBRENSIS</i>	59
FIGURA Nº 41 COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE PRODUCCION DE PROGENIE DE <i>C. FLACILLA</i> DE LAS PRUEBAS DE ELECCIÓN VS NO ELECCIÓN PARA LA PROCEDENCIA:	
PAPA – <i>L. HUIDOBRENSIS</i>	59
FIGURA Nº 42 COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE PRODUCCIÓN DE PROGENIE DE <i>C. FLACILLA</i> DE LAS PRUEBAS DE ELECCIÓN VS NO ELECCIÓN PARA LA PROCEDENCIA:	
MAÍZ – <i>L. GRAMINIVORA</i>	59
FIGURA Nº 43 TAMAÑO PROMEDIO (μM) DE TIBIAS POR SISTEMA DE PROCEDENCIA (A), ASOCIACIÓN PLANTA-MINADOR (B) Y SEXO (C) DE HEMBRAS Y MACHOS DE <i>C. FLACILLA</i> .	
.....	61

RESUMEN

La mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* es una plaga agrícola de importancia mundial, ampliamente distribuida y representa la plaga más dañina en el cultivo de papa en el Perú. El control biológico, que incluye el uso de parasitoides, representa la mejor estrategia para el control de esta plaga. La utilización exitosa de los parasitoides dependerá de nuestro conocimiento de dichos factores, incluyendo las interacciones tritróficas entre plantas hospederas, insectos y parasitoides. Nuestro estudio se realizó sobre el parasitoide *Chrysocharis flacilla* con el objetivo de evaluar el efecto de las interacciones tróficas en determinados parámetros biológicos como longevidad, supervivencia, producción de progenie, proporción sexual y longitud de la tibia posterior. Se desarrollaron tres sistemas de procedencia del parasitoide: Papa - *L. huidobrensis*, Haba - *L. huidobrensis* y Maíz -*L. graminivora*, cuyos adultos interactuaron con tres asociaciones de prueba idénticas a los sistemas de procedencia mencionados. Todas las evaluaciones se realizaron mediante pruebas Elección y No Elección. *C. flacilla* presentó una variación intraespecífica en todos los parámetros evaluados. Se encontraron diferencias significativas en su longevidad, supervivencia, proporción sexual y longitud de la tibia posterior luego de interactuar con las distintas asociaciones planta – minador de prueba; asimismo, en su producción de progenie entre las tres procedencias estudiadas. Se menciona la implicancia que puede tener la planta hospedera, así como, el minador hospedero sobre dicha variación en *C. flacilla*. Finalmente, el parasitoide no presenta preferencia por alguno de sus sistemas de procedencia y las asociaciones tróficas Haba - *L. huidobrensis* y Maíz -*L. graminivora* pueden funcionar adecuadamente como hospederos alternos del parasitoide.

Palabras clave: longevidad, supervivencia, ratio sexual, longitud de tibia posterior, progenie, prueba de No Elección, prueba de Elección, asociación planta-minador-parasitoide, sistema de preferencia.

ABSTRACT

The leaf miner *Liriomyza huidobrensis* is an agricultural pest of global importance, widely distributed, representing the most damaging pest in Peru for potato crop. Biological control, including the use of parasitoids, represents the best strategy for controlling this pest. The successful uses of parasitoids will depend on our knowledge of many factors, including tritrophic interactions between host plants, insects and parasitoids. Our study was performed on parasitoid *Chrysocharis flacilla* in order to assess the effect of trophic interactions in biological parameters such as longevity, survival, production of progeny, sex ratio and posterior tibia length. Three parasitoid origin systems were developed: Potato - *L. huidobrensis*, Faba bean - *L. huidobrensis* and Maize - *L. graminivora*, whose adults interacted with three associations identical to origin systems mentioned. Assessments were made in both No Choice and Choice Tests. We found that *C. flacilla* has an intraspecific variation in all biological parameters assessed. We found significant differences on longevity, survival, sex ratio and posterior tibia length after interactions with the three different crop – leaf miner associations assessed; moreover, offspring production showed significant differences among the three origin systems studied. We discuss host plant and host leaf miner implications on such intraspecific variation in parasitoid. Finally, *C. flacilla* does not have any preference for its origin systems; and the trophic associations Faba bean - *L. huidobrensis* and Maize - *L. graminivora* can function adequately as alternate hosts of the parasitoid.

Keywords: longevity, survival, sex ratio, posterior tibia length, offspring, No choice test, Choice test, plant-leafminer-parasitoid association.

1 INTRODUCCION

La mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard, 1954) (Diptera: Agromyzidae), originaria de América del Sur (Spencer, 1973; Scheffer y Lewis, 2001), es una plaga agrícola de importancia mundial tanto en campos de cultivo como en invernaderos (Weintraub y Horowitz, 1998, Shepard y Braun, 1998, Chen y Kang, 2004). Esta especie es altamente polífaga con plantas hospederas en 16 familias diferentes de cultivos vegetales (Spencer, 1973). La naturaleza polífaga de *L. huidobrensis*, combinada con altas tasas de reproducción y el rápido desarrollo de resistencia a los insecticidas, han contribuido para el éxito de esta mosca minadora como especie invasora (Shepard y Braun, 1998; Rauf *et al.*, 2000; Wei *et al.*, 2000; Banchio *et al.*, 2007; Martin *et al.*, 2005).

En el Perú la mosca minadora está ampliamente distribuida en los valles costeros y valles abrigados de la sierra y representa la plaga más dañina en el cultivo de papa (Mujica *et al.*, 2011; Raven, 1993). Las infestaciones no controladas de esta plaga pueden reducir los rendimientos del cultivo de papa en más del 50% (Cisneros y Mujica, 1998). Para su control se usan principalmente insecticidas, desafortunadamente *L. huidobrensis* ha desarrollado niveles significativos de resistencia a la mayoría de los insecticidas comerciales como carbamatos, fosforados y piretroides (Parrella *et al.*, 1984; MacDonald, 1991). Otro efecto negativo de los insecticidas es la eliminación de los enemigos naturales (parasitoides y depredadores), por ello se han desarrollado medios de control alternativos de la plaga que buscan reducir o eliminar el uso de agroquímicos (Cisneros y Mujica, 1997; Mujica y Kroschel, 2005). En su conjunto estos métodos alternativos constituyen el Manejo Integrado de Plagas (MIP) que trata de mantener las plagas de un cultivo a niveles que no causen daño económico utilizando preferentemente los factores adversos al desarrollo de la

plaga y donde el control biológico representa uno de los factores de mortalidad más importantes para la protección fitosanitaria (Cisneros, 1995).

El control biológico de la plaga puede realizarse de manera directa por el hombre (importación e incremento) o bien a través de acciones indirectas mediante el manejo de las interacciones existentes en el agroecosistema (conservación). Debido al numeroso complejo de parasitoides identificado en nuestro país (Mujica y Kroschel, 2011), las estrategias de conservación resultan las más adecuadas para incrementar el parasitismo en campos cultivados y regular a esta plaga (Murphy y La Salle, 1999). En nuestro país, el Centro Internacional de la Papa ha iniciado estudios de control biológico de conservación de la mosca minadora *L. huidobrensis* mediante la crianza abierta de parasitoides, que consiste en favorecer la presencia de plantas y minadores no perjudiciales en el mismo ambiente del cultivo de papa para incrementar las poblaciones de enemigos naturales (Parkman *et al.*, 1989; van der Linden, 1992).

Liriomyza graminivora (Hering, 1949) (Diptera: Agromyzidae) es un herbívoro especialista en plantas de gramíneas (Koritkowsky 1982), que infesta principalmente plántulas de maíz (*Zea mays* L.) en la costa central del Perú. *L. graminivora* presenta un rico complejo de parasitoides que han sido encontrados atacando a *L. huidobrensis* (Salazar, 2008; Mujica y Kroschel, 2011). Debido al alto grado de especialización de *L. graminivora*, el sistema formado por la planta de maíz, el minador *L. graminivora* y sus parasitoides pueden ser muy útiles en la implementación de un sistema de crianza abierta de parasitoides de *L. huidobrensis* en el cultivo de papa y otros cultivos hortícolas y ornamentales. Por esta razón, entre los años 2006 - 2008 se evaluó el sistema de crianza abierto de parasitoides en campos experimentales mediante la siembra de dos surcos de maíz a ambos lados de las parcelas de papa para favorecer la reproducción de parasitoides en un huésped alternante a la plaga *L. huidobrensis*. Sin embargo, si bien las dos especies de *Liriomyza* compartieron las mismas especies de parasitoides, las especies de parasitoides más abundantes en las franjas de refugio

no correspondieron a las especies de parasitoides más abundantes encontradas en el cultivo de papa atacado por *L. huidobrensis* (Mujica, comunicación personal). Por lo tanto ¿Los parasitoides prefieren habitar en aquellas plantas hospederas infestadas por la plaga de donde han emergido porque en ellas alcanzan una mejor performance en sus parámetros biológicos?. Para responder esta interrogante se seleccionó al parasitoide *Chrysocharis flacilla* (Walker, 1842) y a las especies de mosca minadora *L. huidobrensis* (criada en papa y haba) y *L. graminivora* (criada en maíz) para estudiar la interacción planta hospedera-plaga-parasitoide.

La importancia del presente trabajo de investigación es generar conocimientos que expliquen las interacciones biológicas entre los niveles tróficos planta-plaga-parasitoide y permitan un mejor manejo del conjunto de los diferentes parasitoides asociados a la mosca minadora *L. huidobrensis* en el control biológico de conservación. Para llevar a cabo esta investigación se realizó la reproducción masiva de los diferentes componentes del sistema en estudio. En invernadero se propagaron plantas de haba, papa y maíz. En laboratorio se instalaron crianzas masivas y separadas de *L. huidobrensis* en plantas de haba y papa, y de *L. graminivora* en plántulas de maíz. A partir de estas crianzas se inició la producción masiva del parasitoide *C. flacilla* en cada uno de los sistemas planta-minador. Los ensayos biológicos consistieron en exponer a la hembra de *C. flacilla*, proveniente de cada uno de los sistemas planta-minador a pruebas de elección (todos los sistemas planta-minador) y no elección (un solo sistema planta-minador). En cada prueba se evaluó la supervivencia, longevidad y reproducción de las hembras adultas de *C. flacilla* en cada sistema planta-minador. Adicionalmente se registró la proporción sexual y el tamaño corporal de los parasitoides producidos (hembras y machos) por dichas hembras. Todas las pruebas se realizaron en incubadoras mantenidas a 25 °C.

2 MARCO TEORICO

2.1 Los minadores de hojas de la familia Agromyzidae:

“Moscas minadoras” es el nombre común con el que se conoce a la mayoría de especies de la familia Agromyzidae (Diptera). Este grupo es de hábitos fitófagos ya que atacan diversas partes de las plantas durante su fase de larva, el 75% de las especies se desarrollan en las hojas formando túneles o “minas” de diversos tipos que varían según la especie, esto produce daño estético, reduce la producción y puede llegar a matar a la planta hospedera. Por esta razón algunas especies de minadores son consideradas muy importantes ya que al reproducirse generan daños económicos en cultivos alimenticios y ornamentales (Raven, 1993; Johnson *et al.*, 1980; Parrella *et al.*, 1984). El género *Liriomyza* contiene más de 300 especies que se encuentran ampliamente distribuidas en todo el mundo, la mayoría de estas se ubican en regiones templadas (Spencer, 1973). De estas 23 son consideradas de importancia económica y 5 son llamadas polífagas verdaderas, lo que es poco común en la familia Agromyzidae (Parrella, 1987). En el Perú, se ha identificado 47 especies de moscas minadoras en 9 géneros, de todas ellas solo *L. huidobrensis* Blanchard y *Liriomyza sativae* Blanchard son consideradas plagas de importancia agrícola por sus hábitos polífagos (Korytkowski, 1982; Mujica y Kroschel 2011).

2.1.1 Origen y distribución geográfica de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis*

La "mosca minadora de las hojas", *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae), es nativa del Neotrópico (Perú, Chile, Argentina, Brasil, América Central y México) y se ha difundido rápidamente hacia otras regiones (Europa, varios países de África y lugares aislados de Malasia e Israel). *L. huidobrensis* es un insecto polífago con un amplio rango de plantas hospederas en cultivos hortícolas (papa, porotos, arveja, tomate, apio, lechuga, pimiento, espinaca, entre otros) y malezas asociadas a los cultivos. Desde hace más de dos décadas es

considerada la plaga más dañina de la papa en los valles costeros del Perú, donde puede causar reducciones de la producción mayores al 50% obligando a los productores a realizar aplicaciones continuas de insecticidas (8 a 13) durante el desarrollo del cultivo. Esta plaga ha desarrollado niveles significativos de resistencia a los insecticidas comúnmente utilizados para matar las moscas adultas (carbamatos, organofosforados y piretroides).

2.1.2 Descripción y estados de desarrollo

Los adultos son mosquitas negras de 2 mm de longitud, con manchas o líneas amarillas en el cuerpo (Figura 1A). La hembra es más grande que el macho y produce con el ovipositor "picaduras" sobre el haz y el envés de las hojas, en las que se producen exudados que le sirven de alimento ("picaduras de alimentación"). En picaduras similares, depositan los huevos entre la epidermis y el mesófilo ("picaduras de oviposición"). Los huevos, insertados individualmente, son elípticos, blancos, de 0.31X0.16 mm. De cada huevo emerge una larva que pasa por tres estados de desarrollo. La larva recién nacida se alimenta del mesófilo de la hoja formando "minas" que se diferenciarán, en el tiempo, por el estado de desarrollo de la larva y el color (cloróticas, u oscuras por la necrosis del tejido) (Figura 1B). Aunque cualquier parte de la hoja puede ser minada, generalmente la larva bien desarrollada se instala cerca de la nervadura central. Al final las hojas pierden su capacidad de producir y se secan. La larva madura deja la hoja y cae al suelo para empupar, aunque algunas pueden hacerlo en el folíolo. El puparium es marrón, de 11 x 0.90 mm. De las pupas emergen las mosquitas adultas, generalmente en las primeras horas de la mañana.

Cada una de las etapas se cumple en un tiempo determinado, según las condiciones ambientales; el ciclo se completa a 20 °C en 19 días. Cada hembra puede vivir hasta 24 días y poner unos 250 huevos en ese período. En el Perú ha sido registrada en al menos 45 especies de plantas hospederas entre ellas importantes

cultivos como papa, haba, tomate, zapallo, lechuga, frejol, arveja, espinaca, alfalfa, apio, pimiento, etc; lo que la convierte en una especie muy importante por sus efectos sobre la agricultura nacional (Korytkowski, 1982).



Figura N° 1 Adulto de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* (A) y hoja de frijol con daño en forma de minas serpenteadas producido por las larvas (B).

2.1.3 Origen y distribución geográfica de la mosca minadora del maíz *Liriomyza graminivora*

Es una especie de mosca minadora considerada oligófaga, en su fase larval produce minas alargadas, que son paralelas a la nervadura central de la hoja de la plantas hospedera, las pupas que se forman se mantienen en el interior de la hoja (Korytkowski, 1982) (Figura 2). En Europa ha sido reportada en los países de España y Lituania y en América del Sur, en Perú (Ostrauskas *et al.*, 2005; Gil-Ortiz *et al.*, 2010; Korytkowski, 1982). En nuestro país, se le ha registrado en la Costa Norte y Costa Central, afecta principalmente gramíneas, entre ellas las plantas de *Zea mays* L. (Maíz), *Pennisetum purpurascens* (Cola de zorro) y *Cynodon dactylon* (L.) (Grama dulce) (Korytkowski, 1982).

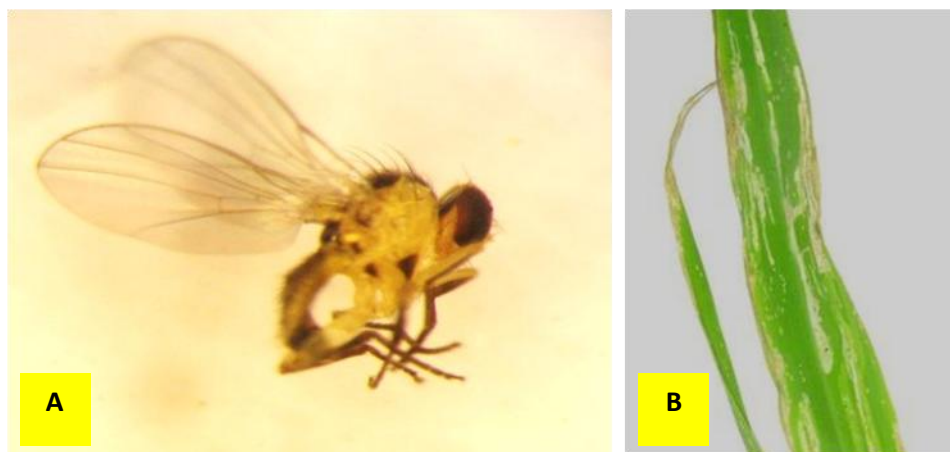


Figura N° 2 Adulto de la mosca minadora *Liriomyza graminivora* (A) y hoja de maíz con daño en forma de minas lineales producido por las larvas (B).

2.2 Parasitoidismo y parasitoides

El parasitoidismo es una relación interespecífica intermedia entre la depredación y el parasitismo. Los parasitoides (en su gran mayoría insectos) como parte de su ciclo de vida depositan un huevo en o cerca de su hospedador o huésped (también por lo general un insecto), luego las larvas viven como ectoparásitos o endoparásitos, según la especie. Cumpliendo el desarrollo larval en su hospedero. El parasitoide adulto es un animal de vida libre, que puede ser herbívoro o depredador. Las características distintivas de los parasitoides son: (1) al finalizar su ciclo larval muere el hospedador (característica que lo diferencia de los parásitos comunes) y (2) cada parasitoide utiliza sólo un hospedador durante su ciclo de vida a diferencia de los depredadores, que matan varias víctimas a lo largo de su vida). Los parasitoides son por lo general mucho más específicos que los depredadores, y a diferencia de los parásitos pueden dispersarse activamente en busca de sus hospederos. Por estas características los parasitoides tienen una gran importancia como agentes de control biológico de insectos plaga, principalmente en la agricultura.

En el control biológico, los parasitoides de los órdenes Hymenoptera y Diptera son los que más se utilizan (Cisneros, 1995). En el Perú, las comunidades de

parasitoides (grupo de especies de parasitoides que ataca a un conjunto de especies hospederas que presentan analogías en su biología) de los agromizidos que afectan a los cultivos comerciales, tienen especies importantes, tales como: *Halticoptera arduine* (Walker) (48.2%), *Chysocharis flacilla* (19.5%), *Chysocharis caribea* (Boucek) (8%) y *Diglyphus websteri* (Crawford) (8.7%); según se ha identificado en las regiones de la costa (Mujica y Kroschel, 2011). En el Perú se ha registrado hasta 17 especies de parasitoides conformando el complejo parasítico de *L. huidobrensis* en 22 cultivos comerciales de la costa (Mujica y Kroschel, 2011).

2.2.1 Generalidades del parasitoide *Chrysocharis flacilla*

Chrysocharis flacilla (Walker, 1842) es un endoparasitoide larvo-pupal, koinobionte de origen neotropical y ataca preferentemente larvas de segundo a tercer estadio de moscas minadoras. Se distribuye en los países de: México, El Salvador, Ecuador, Colombia, Perú, Argentina, Chile y Uruguay (Salvo, 1996; Ramírez, 2008; Hasson, 1987). En la familia Agromyzidae, el género más atacado por este parasitoide son las especies de *Liriomyza*. En *C. flacilla* se ha determinado que con el incremento de la temperatura se acorta el desarrollo de sus estados inmaduros, asimismo, durante su estado adulto, la temperatura afecta marcadamente su longevidad, fecundidad y proporción sexual haciéndolas variar de diferentes maneras. Posee partenogénesis tipo telitokia. También, a 25 °C se observa que tiene el menor periodo de pre y post oviposición y su capacidad de oviposición es mayor (Ramírez, 2008).

Como himenóptero holometábolo su ciclo de vida consta de cuatro fases (huevo, larva, pupa y adulto), donde las tres primeras fases suceden dentro de su hospedero: Los huevos son ovalados de color blanquecino o transparente, miden menos de 0.1 x 0.1 mm. La larva es de tipo hymenopteriforme y pasa por tres estadios que se diferencian por morfología externa y sus mandíbulas, las mediciones de los estados larvales se presentan según el ancho de la capsula cefálica y el largo del

cuerpo, en su primer estadio tiene un ancho de 0.134 mm y largo de 0.436 mm, en su segundo estadio tiene un ancho de 0.453 mm y largo de 1.11 mm, y en su tercer estadio tiene un ancho de 0.428 mm y largo de 1.19 mm. La fase de pupa presenta una pupa exarata, de color blanquecino transparente a marrón muy oscuro, donde la capsula cefálica tiene 0.435 mm de ancho y el cuerpo 1.467 mm de largo. En la fase de adulto la hembra y macho son parecidos morfológicamente, ambos de color metálico oscuro, sin embargo, la hembra presenta el peciolo reticulado, el abdomen romboide y anguloso con ovipositor retráctil, antenas 5 segmentadas con escapo alargado, el macho tiene el escapo más largo y ancho que la hembra, abultado en la parte apical. En esta fase la cabeza de *C. flacilla* tiene 0.44 mm de ancho y el cuerpo 1.523 mm de largo (Ramírez, 2008) (Figura 3).



Figura N° 3 Vista dorsal y lateral del adulto del parasitoide *Chrysocharis flacilla*

Respecto a su abundancia se ha identificado que presenta una muy alta en algunos países de América del Sur. Redolfi *et. al* (1985) y Mujica y Kroschel (2011) encontraron altos niveles de abundancia de esta especie en la costa peruana, representando el 14.73% y 19.5% respectivamente del total de parasitoides recuperados por los autores. Asimismo, también se ha encontrado altos niveles de

parasitismo en Argentina en un rango de 12 – 85%, ya sea en hábitats naturales como de cultivo (Salvo y Valladares, 1995).

2.3 Control biológico

El control biológico es la represión de las plagas mediante sus enemigos naturales; es decir mediante la acción de depredadores, parasitoides y patógenos. Representa un componente importante del control integrado de plagas y es de gran importancia económica para la agricultura. El control biológico se considera natural, cuando se refiere a la acción de los enemigos biológicos sin la intervención del hombre; y se le denomina artificial o aplicado cuando, de alguna manera, es afectado o manipulado por el hombre. Cabe distinguir tres estrategias básicas de aplicación del control biológico:

- Importación e incremento.
- Como resultado de la intervención directa del hombre.
- Conservación como resultado de acciones indirectas.

En el caso de minadores de hoja se han registrado más de 140 especies de parasitoides de Agromyzidae a nivel mundial (Spencer, 1973; Minkenberg y van Lenteren, 1986), pero solo unas pocas especies de depredadores (incluyendo nematodos) y entomopatogenos. Diferentes especies de parasitoides y nematodos han sido criadas masivamente y usadas para el control biológico de las especies de *Liriomyza* (Liu *et al.*, 2009).

2.3.1 Control biológico de conservación

El control biológico de conservación implica manipular el agroecosistema y proveer un ambiente que conduzca a la conservación y fomento de una biota compleja de enemigos naturales, (Barbosa y Berney, 1998; Landis *et al.*, 2000, Keller y Baker, 2002). La modificación del hábitat busca mejorar la disponibilidad de los recursos

necesarios para que los enemigos naturales tengan una acción óptima contra las plagas (Landis *et al.*, 2000). Esto se logra con la instalación o manejo de la infraestructura ecológica en campos de cultivo (anuales y perennes) y paisaje (adyacente al cultivo) para abastecer a los enemigos naturales de alimento (polen o néctar), presas, hospederos alternos y refugio (Paredes *et al.*, 2013). Debido a la riqueza y abundancia de parasitoides hymenopteros de moscas de la familia Agromyzidae a lo largo de la costa (Mujica y Kroschel, 2011), las estrategias del control biológico de conservación para incrementar el parasitismo, serían los métodos más apropiados para regular a *Liriomyza spp* en el Perú, particularmente en los estadios tempranos de la plaga (Murphy y LaSalle, 1999).

2.3.2 El sistema de crianza abierto de parasitoides

La restauración del equilibrio de la población de un insecto plaga se puede lograr a través de la protección de parasitoides y la construcción de focos naturales de estos agentes, llamado sistema de crianza abierta. El método consiste en descubrir un minador inofensivo al cultivo principal, que tiene el mismo complejo de parasitoides de la plaga objetivo, multiplicarlo en una planta hospedera alternante no invasora, y en el que no viva la especie que se pretende controlar. La planta huésped elegida se puede instalar junto al cultivo principal (Parkman *et al.*, 1989). Existen ejemplos exitosos de sistemas de crianzas abiertos para controlar moscas minadoras que han resultado ser de bajo costo y no contaminante. En invernaderos de Holanda para el control de la mosca minadora *L. huidobrensis* en el cultivo de lechuga se seleccionó a la planta *Ranunculus asiaticus* L. que es infestada por el minador *Phytomyza caulinaris* Hering y sirvió como hospedero alternante de los parasitoides *Dacnusa sibirica* Telenga y *Diglyphus isaea* (Walker). Estos parasitoides controlaron eficientemente a *L. huidobrensis* en lechuga (van der Linden, 1992).

2.4 Interacciones parasitoide – plaga – planta

El estudio de las relaciones tritróficas (planta hospedera-plaga-parasitoide) además de incrementar el conocimiento básico sobre las especies presentes en un agroecosistema, es de utilidad para la toma de decisiones referidas a la sanidad del cultivo y a su utilización de manera óptima y sostenida.

Las interacciones que se presentan entre herbívoros y sus plantas hospederas y entre herbívoros y sus parasitoides son mejor comprendidas cuando son consideradas en un marco tritrófico (Price *et al.*, 1980). Muchos estudios han revelado que entre una variada fuente de señales químicas, los volátiles de plantas juegan un rol vital para que el herbívoro y sus enemigos naturales puedan ubicar a su correspondiente hospedero (De Moraes *et al.*, 2001; Dicke, 1999; Smid *et al.*, 2002; Turlings y Wackers, 2004; Vet y Dicke, 1992; Wei y Kang, 2006; Wei *et al.*, 2007; Zhao y Kang, 2002).

Recientemente, los volátiles de plantas inducidos por herbívoros (VPIHs), han recibido una creciente atención debido a su rol como defensas directas e indirectas de las plantas. Los VPIHs son encontrados en un amplio rango de taxa de plantas, y son inducidos por numerosos artrópodos herbívoros. Los volátiles producidos por las plantas juegan un rol importante para los insectos fitófagos porque les permite reconocer a distancia dichas plantas hospederas (Visser, 1986). Zhao y Kang (2002) encontraron que los adultos minadores de hoja emplearon más tiempo en la búsqueda de volátiles de plantas hospederas tales como frejoles, tomates y zapallos, que en la búsqueda de olores de plantas no hospederas.

Por otro lado, aunque las señales de ubicación del hospedero por parte de las avispas parasíticas incluyen señales visuales, químicas, acústicas y de contacto, hay evidencia sustancial que la información química juega el rol más importante en este proceso para los parasitoides de minadores de hoja. Dicke y Minkenberg (1991)

encontraron que las mezclas de volátiles de las hojas de tomate infestadas con minadores afectaron el comportamiento de *Dacnusa sibirica* en la ausencia de señales visuales. De manera similar, Pettitt *et al* (1992) reportaron que *Opius dissitus* Muesebeck aterrizaba preferentemente sobre plantas de frejol infestadas con minadores de hojas que sobre las no infestadas. Esta preferencia fue confirmada por los experimentos de elección en olfatometros de cuatro brazos que no contenían ninguna señal visual. Las señales químicas para la atracción de parasitoides son a menudo compuestas por el complejo de señales de los volátiles inducidos por minadores de hojas (Wei *et al.*, 2007), así se hace difícil entender el rol de los compuestos específicos en la ubicación de los parasitoides (Wei *et al.*, 2006). Sin embargo, diferentes estudios han revelado que los sensilia olfatorios de parasitoides solo responden a un limitado número de compuestos liberados por plantas dañadas por insectos, por lo tanto reduce sustancialmente el número de compuestos que requieren probar (Park *et al.*, 2002; Smid *et al.*, 2002; Wei y Kang, 2006).

Técnicas electrofisiológicas han sido usadas exitosamente para entender los mecanismos de percepción de olor de los parasitoides de *Liriomyza spp.* Por ejemplo, en un estudio sobre *L. sativae* y *Diglyphus isaea*, Zhao & Kang (2002) encontraron que ni los hospederos sanos ni las plantas no hospederas de los minadores de hojas provocaron respuestas notorias del electroantenograma (EAG) en el parasitoide. Sin embargo, los olores de hojas dañadas físicamente, si eran de plantas hospederas o no hospederas producían fuertes respuestas EAG de los minadores de hojas y del parasitoide. Los autores también identificaron nueve compuestos volátiles activos en extractos de las hojas de frejol dañado por estadios de segundo estado *L. huidobrensis* y *L. sativae* (Wei y Kang, 2006).

2.5 Pruebas de Elección y No Elección

La realización de un estudio donde se emplee el sistema de hospedero alternativo implica que el parasitoide debe elegir entre dos opciones: 1) la planta hospedera alternativa + el minador alternativo y 2) el cultivo + la plaga. Ante esta situación, el insecto podría responder parasitando en mayor medida una de ambas opciones o podría parasitar ambas de manera semejante. Esto implica que el parasitoide debe reconocer las señales físicas y químicas de cada asociación planta - minador y manifestar si tiene preferencia por alguna de ellas. Una manera de medir este efecto podría ser a través de la cantidad de minadores que decide parasitar en cada asociación. Los motivos para realizar este tipo de estudios pueden originarse en la necesidad de probar la especificidad de un agente de control biológico, o bien, de generar conocimientos que puedan ser aprovechados para estructurar una estrategia de manejo ecológico que permita optimizar el rendimiento del biocontrolador en cuestión (Rutledge & Wiedenmann, 1999; Raffa *et al.*, 2002).

En las pruebas de elección, el parasitoide es expuesto a más de una asociación planta – minador en el mismo tiempo y espacio, entre dichas asociaciones suele estar la especie “blanco” (sobre la cual se desea estudiar su acción biocontroladora). Presentan la ventaja de que permiten estudiar el comportamiento de selección del parasitoide en condiciones donde los insectos encuentran varios posibles hospederos y son capaces de percibir sus señales atrayentes en un mismo espacio temporal.

En las pruebas de No Elección, cada asociación planta – minador es presentada por separado al parasitoide para conocer hasta qué punto el parasitoide puede atacar al minador ofrecido. Es considerada una prueba más rigurosa porque se le obliga al parasitoide a actuar o no actuar sobre el minador ofrecido, así se busca disminuir los falsos negativos ya que en las pruebas de Elección las asociaciones

planta – minador que son ligeramente atraentes pueden ser ignoradas por el parasitoide si este se enfoca en ovipositar en las asociaciones planta – minador que le generan mayor atracción (Edwards, 1999).

2.6 Parámetros biológicos de los parasitoides himenópteros en estudio

2.6.1 Longevidad

Se define como el tiempo que un individuo de una especie permanece con vida, en el caso de los parasitoides y otros insectos el tiempo se mide en días (Bai y Smith, 1993; Eben *et al.*, 2000; Schmale *et al.*, 2001)

2.6.2 Supervivencia

Es un parámetro biológico asociado a la longevidad del parasitoide, ya que está representado por el porcentaje de parasitoides evaluados que están con vida desde el inicio de la prueba hasta el final de la misma. La duración de la prueba está determinada por la longevidad que puedan alcanzar los sometidos a evaluación. De esta manera la supervivencia está sujeta a una variación diaria que empieza con 100% en el primer día y termina en 0% en el último día (Bai y Smith, 1993).

2.6.3 Producción de progenie

La producción de progenie, es considerada como la descendencia que una hembra produce a lo largo de toda su vida (Schmale *et al.*, 2001).

2.6.4 Proporción sexual

El total de hembras y machos producidos por una hembra durante toda su etapa reproductiva constituye la descendencia o progenie del insecto. La relación del número de machos sobre el número de hembras representa la proporción sexual de la descendencia y el porcentaje de hembras entre el total de la progenie constituye la proporción de hembras de la progenie.

2.6.5 Tamaño de tibias posteriores

El tamaño corporal de los parasitoides esta frecuentemente relacionado a su estado físico y para evaluarlo se suele medir el tamaño de la tibia posterior de su tercer par de patas y así expresar el tamaño del cuerpo (King, 1987; Greenberg *et al.*, 1995; Lampson *et al.*, 1996; Eben *et al.*, 2000; Salvo & Valladares, 2002).

3 HIPOTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis

Hipótesis Nula:

En términos de producción de progenie, las hembras adultas del parasitoide *Chrysocharis flacilla* presentan preferencia por la asociación planta – minador idéntica a su procedencia.

Hipótesis alterna:

En términos de producción de progenie, las hembras adultas del parasitoide *Chrysocharis flacilla* no presentan preferencia por la asociación planta – minador idéntica a su procedencia.

3.2 Objetivos

Objetivo general:

Determinar el efecto de las interacciones tróficas (planta-minador-parasitoide): Haba- *Liriomyza huidobrensis*- *Chrysocharis flacilla*, Papa-*Liriomyza huidobrensis*-*Chrysocharis flacilla* y Maíz-*Liriomyza graminivora*- *Chrysocharis flacilla* en los parámetros biológicos del parasitoide.

Objetivos específicos:

- Determinar el efecto de la procedencia del parasitoide en su desempeño como adulto, en términos de su longevidad, supervivencia y producción de su progenie.
- Determinar el efecto de tres asociaciones planta-minador en la longevidad, supervivencia y reproducción del parasitoide.

- Evaluar la proporción sexual y el tamaño de la tibia posterior *Chrysocharis flacilla*, a partir de tres procedencias, sobre tres asociaciones planta – minador.

4 MATERIAL Y METODOS

Todos los experimentos se llevaron a cabo durante el periodo de Marzo del año 2012 a Marzo del año 2013, en las instalaciones del área de Entomología del Centro Internacional de la Papa (CIP) con sede en el distrito de la Molina, Lima–Perú (L.S. 12 05', L.O. 76 57', 240 m.s.n.m). El estatus taxonómico del parasitoide fue determinado por comparación con material de la colección del Museo de Entomología del CIP-Lima.

4.1 MATERIALES

4.1.1 Material biológico

- Adultos y larvas de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis*
- Adultos y larvas de la mosca minadora *Liriomyza graminivora*
- Adultos del parasitoide *Chrysocharis flacilla*
- Plantas de *Vicia faba* L. (haba)
- Plantas de *Solanum tuberosum* L. (papa)
- Plantas de *Zea mays* L. (maíz)

4.1.2 Material de laboratorio

- Reactivos: alcohol 96°, insecticida Confidor® (Imidacloprid) y fungicida Mertec® (Thiabendazole).
- Equipos: incubadoras, cámaras de refrigeración, microscopio estereoscopio, lámparas.
- Material de vidrio: tubos de ensayo pírex, tubos Folines, frascos viales.
- Material de plástico: envases de plástico de 5 L, 0.5 L y 0.11L, placas de petri, Parafilm®, aspiradores

- Material de madera: jaulas de crianza de 100 x 50 x 50 cm.
- Otros: macetas de 4 y 6 pulgadas, miel de abeja, telas de tul, arena, contómetro, pinceles, estiletes, algodón, bandas elásticas, plumones indelebles, cuaderno de apuntes, lápices, arena, tierra, musgo y agua.

4.2 METODOS

4.2.1 Procedimientos de desarrollo

4.2.1.1 Propagación de plantas

Todos los procedimientos de propagación de plantas se realizaron en invernadero. La siembra se hizo en macetas de plástico de seis pulgadas (para papa) y de cuatro pulgadas (haba y maíz) de diámetro (Figura 4). En el interior de cada maceta se colocó como sustrato una mezcla de arena, tierra y musgo en proporción 1:1:1, previamente esterilizada a vapor de agua a 75-85°C por dos horas.

a) Plantas de haba:

En cada maceta se colocaron cinco semillas de la variedad “Cincos” previamente tratadas con Confidor® (tratado igual que en el caso de papa) y con Mertec® (Thiabendazole) que es un fungicida altamente sistémico con propiedades preventivas y curativas preparado en la proporción de 5 mililitros por litro de agua. Las plantas fueron regadas dejando un día durante 3 semanas (20 días), para luego ser utilizadas. La unidad de haba consistió de una maceta con cinco plantas de 20 días de edad, conteniendo entre 6-8 hojas/planta.

b) Plantas de papa

Los tubérculos de papa fueron tratados por inmersión con el insecticida sistémico Confidor® (Imidacloprid) preparado en la proporción de 2 mililitros por litro de agua, con el fin de proteger los primeros brotes de la planta de papa del ataque de moscas Cecidomyiidae. En cada maceta se colocó un tubérculo de papa de la variedad “Canchan”, las que luego fueron colocadas dentro de jaulas de madera con malla para evitar que sean atacadas por insectos. Las plantas fueron regadas dos veces por semana y permanecieron en las jaulas hasta ser utilizadas. Una unidad de papa estuvo constituida por una maceta con una planta de papa de entre 50 a 60 días con aproximadamente 40 hojas.

c) Plantas de maíz:

En cada maceta se sembraron 10 semillas de maíz, las que fueron regadas tres veces por semana y permanecieron en el invernadero por 2 semanas para después ser utilizadas.

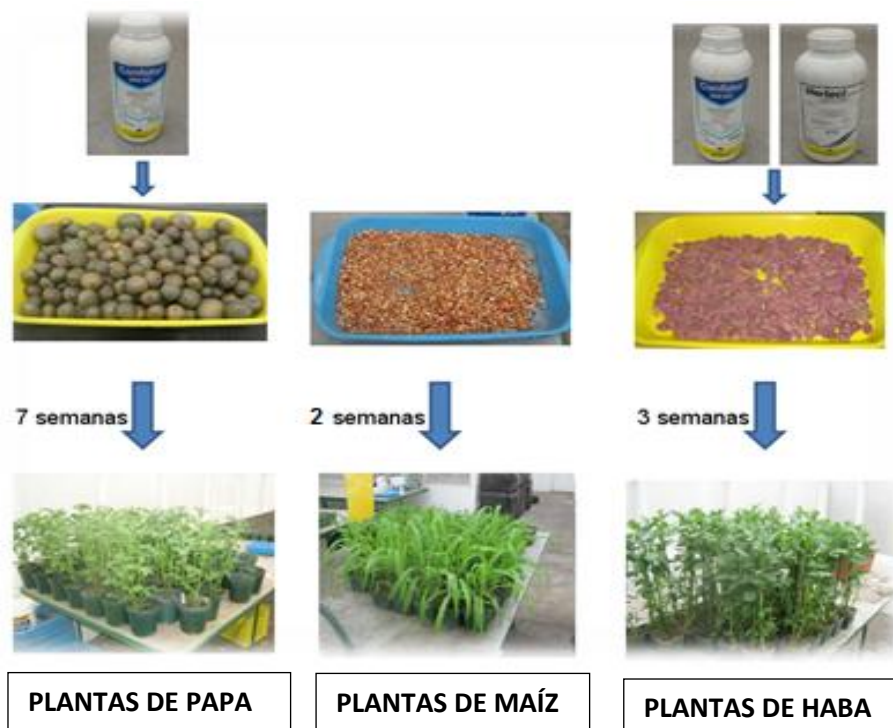


Figura N° 4 Esquema del tratamiento de las semillas y propagación de las plantas de papa, maíz y haba.

4.2.1.2 Cría masiva de insectos

a) Cría masiva de las moscas minadoras

Los adultos de *L. huidobrensis* y *L. graminivora* empleados en este estudio fueron obtenidos de las colonias mantenidas en el CIP a 20° C sobre plantas de haba y maíz, respectivamente.

Se colocó el hospedero vegetal (haba, papa o maíz) en una jaula de madera (100 x 50 x 50 cm) y luego se liberó entre 250 a 300 adultos (3 días de edad) de la mosca minadora requerida en una proporción aproximada de 1 macho: 1 hembra. Las plantas fueron expuestas a los adultos de la mosca minadora por 48 horas y luego de este tiempo fueron retiradas de las jaulas de crianza y remplazadas por un número similar de plantas nuevas, este procedimiento se repitió cada 48 horas. La cantidad utilizada de cada planta hospedera por jaula de crianza fue de 15 unidades para haba, cinco unidades para papa y 10 unidades para maíz. El minador utilizado para infestar plantas de haba y papa corresponde a *L. huidobrensis* (Ver Figura N°5), mientras que *L. graminivora* fue empleado para las plantas de maíz (Ver Figura N°6).

Las plantas retiradas de la crianza se llevaron al invernadero a condiciones no controladas de temperatura para el desarrollo de la fase inmadura que en promedio dura de 2-3 días para el estado de huevo, 5-6 días para el estado larval y de 10-12 días para el estado de pupa. Antes de alcanzar el estado de pupa las hojas de los diferentes hospederos fueron cortadas a nivel del cuello de la planta y colocadas en bandejas de plástico. En el caso del minador *L. huidobrensis* se añadió una capa fina de arena a la base de las bandejas para que la larva al salir de la hoja tenga un sustrato donde alcanzar la fase de pupa, ya que en condiciones naturales la larva pasa a fase de pupa en la superficie del suelo. Asimismo esto nos permitió una colecta fácil y rápida

de las pupas utilizando un cernidor para separar la arena de las pupas. Luego las pupas de *L. huidobrensis* se guardaron en placas Petri para ser utilizadas en la crianza. Este procesamiento se empleó para la obtención de pupas de *L. huidobrensis* tanto en plantas de haba como de papa. Sin embargo, en el caso de las plantas infestadas de maíz no se utilizó este procedimiento debido a que las larvas de *L. graminivora* alcanzan la fase de pupa en el mismo mesófilo de la hoja, por esto, las hojas de maíz luego de secarse a temperatura del ambiente fueron guardadas en bolsas de papel. En total se asignaron tres jaulas para cada crianza planta-minador (*L. huidobrensis*-haba, *L. huidobrensis*-papa, *L. graminivora*-maíz) haciendo un total de 9 jaulas de crianza masiva de moscas minadoras.

En cada una de las crianzas las plantas infestadas se dividieron en tres grupos iguales: el primer grupo fue utilizado para que la mosca pudiera completar su desarrollo y obtener nuevamente adultos con los que se pudo mantener el ciclo de infestación de las plantas; el segundo grupo se usó como fuente de hospederos para la crianza del endoparásitoide *C. flacilla* que se detalla en el acápite “Crianza masiva del parasitoide”, y el tercer grupo sirvió para los procedimientos experimentales que se explican en el acápite de “Bioensayos”.

Este procedimiento se repite en paralelo a los demás experimentos con el fin de obtener el estadio larval adecuado para las diferentes pruebas.

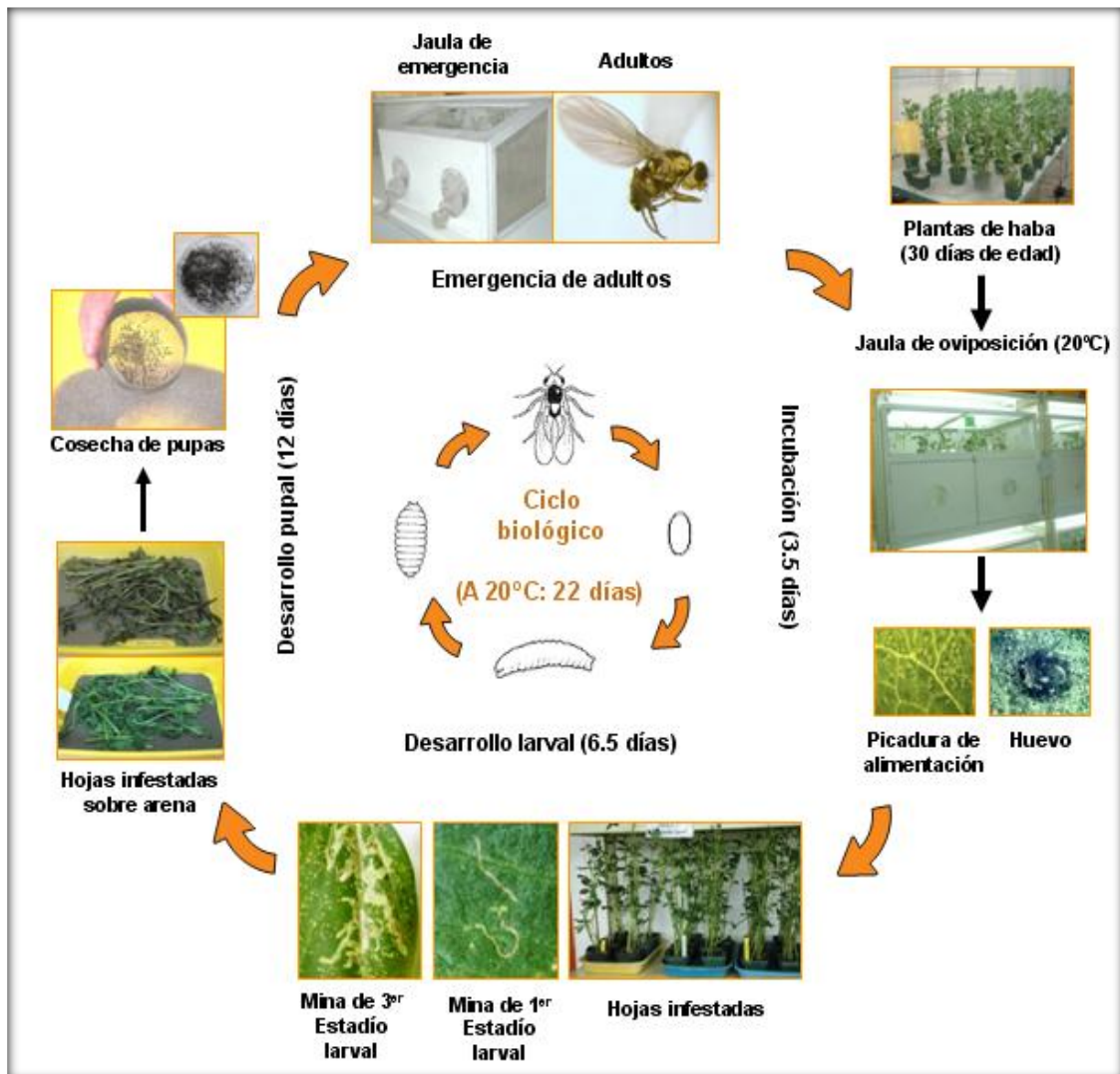


Figura N° 5 Esquema de la cría masiva de la mosca minadora *L. huidobrensis*.

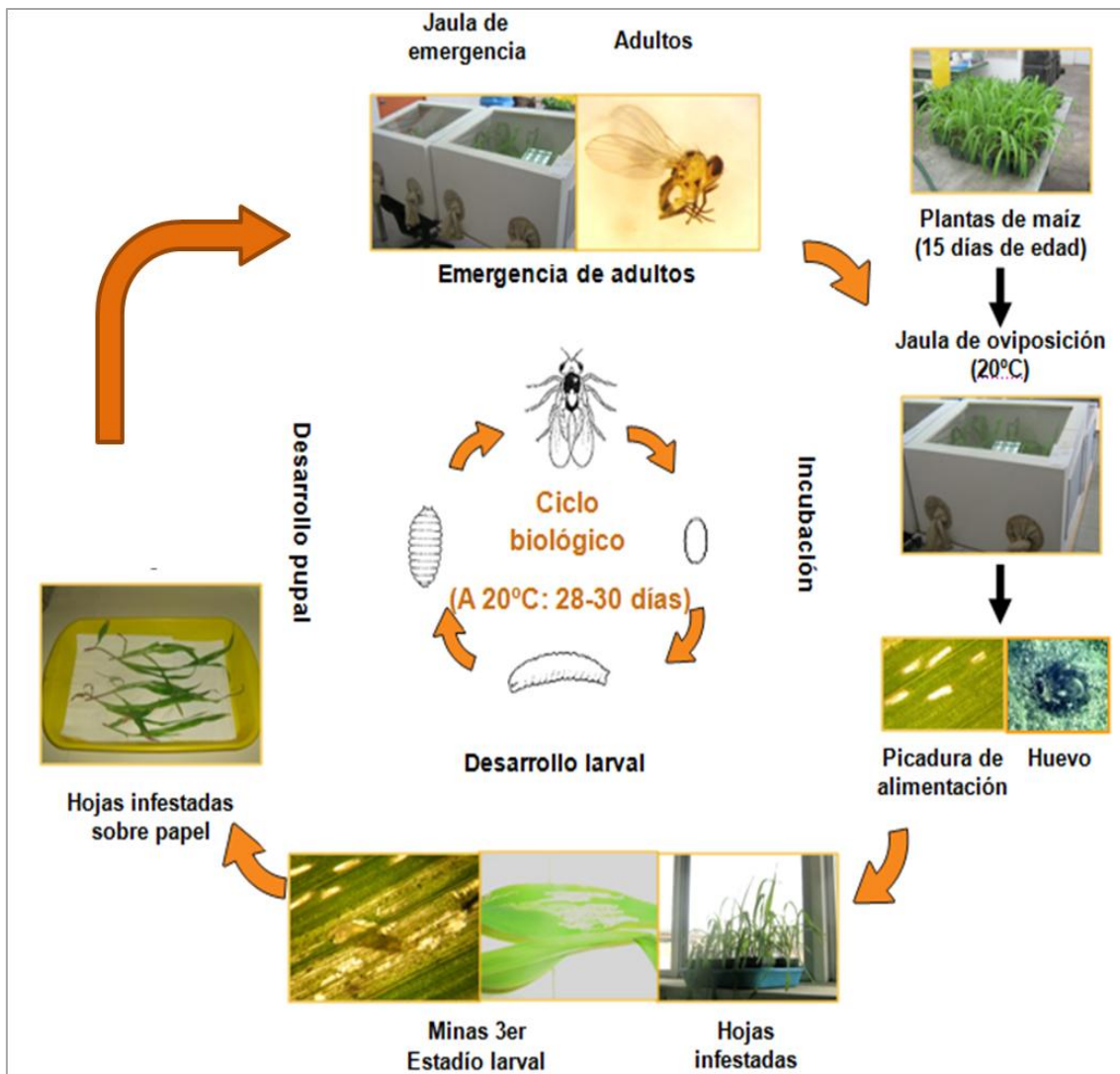


Figura Nº 6 Esquema de la cría masiva de la mosca minadora *L. graminivora*.

b) Cría masiva del parasitoide *C. flacilla*

Los adultos de *C. flacilla* utilizados en este estudio fueron obtenidos de la crianza masiva mantenida a 20°C utilizando como hospedero a larvas de *L. huidobrensis* infestado en plantas de haba.

En la crianza masiva de *C. flacilla* se utilizan larvas de segundo y tercer estadio del minador y la identificación a simple vista de estos estadios es difícil debido a que el estado larval de los Agromyzidae se desarrolla al interior de la hoja. Por esta razón el reconocimiento de los diferentes estadios larvales de la mosca minadora se realiza mediante la medición del ancho de la mina que es fácilmente visible en la hoja (Ver Tabla N°1, Ver Figura N°7).

Tabla N° 1 Ancho de mina (mm) correspondiente a los diferentes estadios larvales de *L. huidobrensis*

Estadio larval	Promedio de ancho de la mina (mm)
Estadio I	0.2 - 0.4
Estadio II	0.4 - 0.8
Estadio III	0.8 - 1.3



Figura N° 7 Hoja de haba mostrando la correspondencia del ancho de mina con los diferentes estadios larvales del minador.

Para la crianza se colocaron plantas infestadas con larvas de segundo y tercer estadio del minador en una jaula de parasitación (100 x 50 x 50 cm) y se liberó una población aproximada de 100-150 adultos del parasitoide. Luego de 48 horas se retiraron las plantas y se ingresó un nuevo grupo de plantas infestadas. Por tratarse de un endoparasitoide (oviposita en el interior de la larva hospedera) el procesamiento de las plantas luego de salir de la jaula de parasitación fue similar al realizado en la crianza masiva de las moscas minadoras (Ver Figura N°8).



Figura N° 8 Esquema de la crianza masiva del parasitoide *C. flacilla* en haba.

Los puparios de los minadores conteniendo las pupas del parasitoide fueron distribuidos en dos grupos: un grupo fue separado para mantener el ciclo de parasitación y el otro para realizar los procedimientos experimentales de “Bioensayo”.

Para tener disponible individuos con los que se pueda examinar el efecto de los sistemas de crianza del parasitoide *C. flacilla* sobre su performance en los parámetros de vida, se generaron tres poblaciones de *C. flacilla* usando como sistemas de crianza las plantas infestadas de haba, papa y maíz. Los sistemas tróficos planta hospedera - minador – parasitoide se ilustran en la Figura N°9.

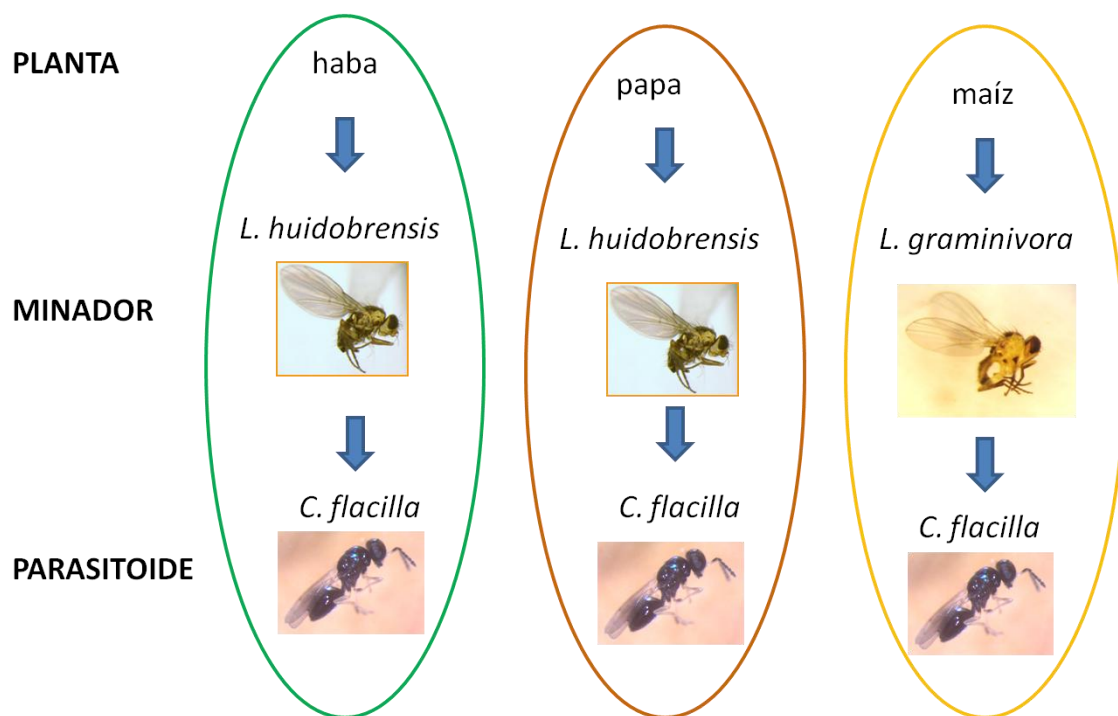


Figura N° 9 Esquema de los tres sistemas tróficos planta-minador-parasitoide implementados para la realización de los bioensayos.

4.2.2 Procedimientos de experimentación

Los procedimientos de experimentación fueron realizados en laboratorio y estuvieron destinados a evaluar los parámetros biológicos de las tres poblaciones de adultos de *C. flacilla*, obtenidas producto de la cría masiva. Para esto se realizaron dos tipos de pruebas con cada población de parasitoides: Las pruebas de No Elección y las pruebas de Elección.

4.2.2.1 Técnica de bioensayo

Para la técnica de bioensayo se utilizaron frascos de plástico transparente de cinco litros de capacidad, colocados en forma horizontal con la boca del frasco cubierta con una pieza de tul sostenida con bandas elásticas para facilitar la aireación de la cámara. En el “piso” de la cámara de cría se fijó una tapa de plástico de 10 cm de diámetro con un orificio central de 2 cm. de diámetro para colocar las unidades planta-mosca minadora.

La unidad planta-minador consistió de hojas de la planta hospedera conteniendo entre 20-30 larvas del segundo y tercer estadio larval de la mosca minadora seleccionada. Las hojas se colocaron en un tubo de vidrio transparente de 50 cm de capacidad y se adicionó agua para mantener la turgencia de las mismas y la apertura del frasco fue sellada con una lámina de parafilm. Al interior de la cámara de cría se liberó una hembra de *C. flacilla* recién emergida que fue alimentada con una solución de miel y agua (1:3). Las hojas expuestas al parasitoidismo, fueron removidas cada 24 horas y reemplazadas por nuevas hojas infestadas con la misma cantidad de larvas del minador. Este procedimiento se repitió hasta la muerte de la hembra.

Las hojas con las larvas parasitadas se colocaron en vasos de plástico de 0.5 L. de capacidad, los que contenían una capa de arena fina en la base, donde se les

mantuvo hasta la formación de las pupas. Al cabo de 5 días, los puparios fueron colectados y colocados en tubos de ensayo de vidrio, con un algodón como tapa, donde permanecieron hasta la emergencia ya sea de los adultos de la mosca minadora o bien de los parasitoides. La evaluación de la progenie de cada hembra se realizó en condiciones de temperatura no controlada. Se registraron diariamente el número de parasitoides emergidos y su proporción sexual. Los parasitoides emergidos fueron sexados bajo microscopio-estereoscopio.

Este procesamiento se empleó para *L. huidobrensis* tanto en plantas de haba como de papa. Sin embargo, en el caso de las plantas infestadas de maíz, debido a que las larvas de *L. graminivora* alcanzan la fase de pupa en el mismo mesófilo de la hoja, no fue necesario colocar arena en el frasco de 0.5L y solo le cubrió con tela tul que fue asegurada con bandas elásticas, luego de la emergencia de parasitoides y moscas se procedió como en el caso de *L. huidobrensis*. Los ensayos fueron repetidos con un mínimo de 10 hembras por repetición en cada una de los sistemas de prueba establecidos.

4.2.2.1.1 Prueba de No Elección

Esta prueba consistió en seleccionar al azar un parasitoide hembra nacida de un sistema de crianza y usarla en la técnica de bioensayo con solo una especie de planta infestada para que parasite (Ver Figura N°10).



Figura N° 10 Esquema de una prueba de no elección

Las combinaciones de procedencia del parasitoide y la correspondiente asociación planta-minador de la prueba de no elección fueron las siguientes:

Procedencia del parasitoide	Asociación planta-minador
Haba - <i>L. huidobrensis</i>	Haba - <i>L. huidobrensis</i>
Haba - <i>L. huidobrensis</i>	Papa - <i>L. huidobrensis</i>
Haba - <i>L. huidobrensis</i>	Maíz – <i>L. graminivora</i>
Papa - <i>L. huidobrensis</i>	Haba - <i>L. huidobrensis</i>
Papa - <i>L. huidobrensis</i>	Papa - <i>L. huidobrensis</i>
Papa - <i>L. huidobrensis</i>	Maíz – <i>L. graminivora</i>
Maíz – <i>L. graminivora</i>	Haba - <i>L. huidobrensis</i>
Maíz – <i>L. graminivora</i>	Papa - <i>L. huidobrensis</i>
Maíz – <i>L. graminivora</i>	Maíz – <i>L. graminivora</i>

4.2.2.1.2 Prueba de elección

Esta prueba consistió en seleccionar al azar un parasitoide hembra nacida de un sistema de crianza y usarla en la técnica de bioensayo con las asociaciones planta-minador desarrolladas (Ver Figura N°11).

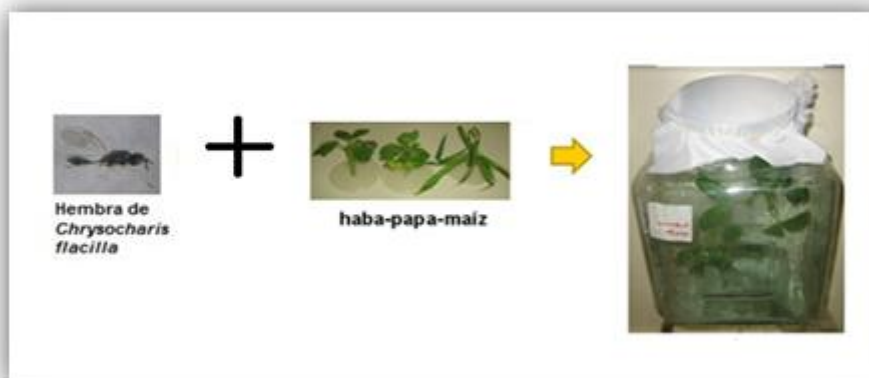


Figura N° 11 Esquema de una prueba de elección

Las combinaciones de procedencia del parasitoide y la correspondiente asociación planta-minador de la prueba de elección fueron las siguientes:

Procedencia del parasitoide	Asociación planta-minador
Haba - <i>L. huidobrensis</i>	Haba - <i>L. huidobrensis</i> Papa - <i>L. huidobrensis</i> Maíz – <i>L. graminivora</i>
Papa - <i>L. huidobrensis</i>	Haba - <i>L. huidobrensis</i> Papa - <i>L. huidobrensis</i> Maíz – <i>L. graminivora</i>
Maíz – <i>L. graminivora</i>	Haba - <i>L. huidobrensis</i> Papa - <i>L. huidobrensis</i> Maíz – <i>L. graminivora</i>

Tanto en las pruebas de elección y no elección se seleccionaron al azar 15 parasitoides hembras del sistema de crianza en mención para interactuar con la planta infestada en cada combinación. Salvo en la prueba de elección de *C. flacilla* de procedencia Papa – *L. huidobrensis*, donde se usaron solo 4 parasitoides y *S. tuberosum* variedad “Peruanita” para poder completar el estudio.

El esquema general de las pruebas de elección y no elección para cada sistema de procedencia del parasitoide se ilustra en la Figura N°12.

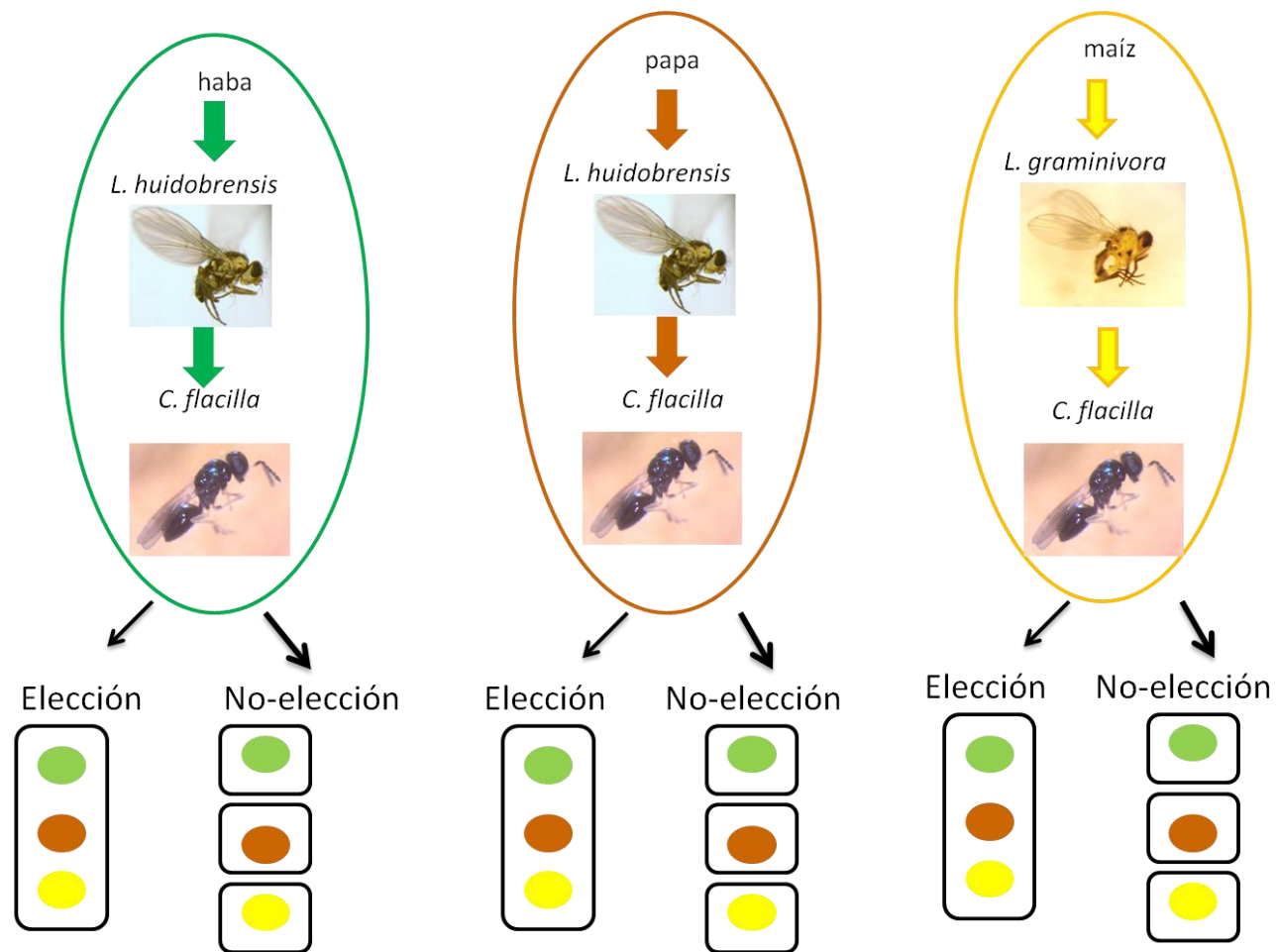


Figura N° 12 Esquema de los bioensayos realizados en los tres sistemas tróficos planta-minador-parasitoide estudiados.

4.2.2.2 Evaluación de los parámetros de vida:

El uso de la técnica de bioensayo en cada combinación de las pruebas de No elección y de Elección permitió evaluar los siguientes parámetros de vida tal como se explica:

a. Longevidad:

Se calculó como el número de días que un individuo hembra de *C. flacilla* permaneció con vida a lo largo de una prueba.

b. Supervivencia:

Diariamente se contabilizó los adultos de *C. flacilla* evaluados en cada combinación de las pruebas de No Elección y Elección. De esta manera, en cada combinación, el porcentaje de parasitoides sobrevivientes por día del total de evaluados fue considerado como la supervivencia.

c. Producción de progenie:

Este parámetro fue considerado como la progenie producida por una hembra de *C. flacilla* a lo largo de toda su vida (Schmale et al., 2001).

d. Proporción sexual:

Se calculó como el número total de machos sobre el número total de hembras de la progenie producida. Adicionalmente se determinó el porcentaje de hembras como la proporción de hembras del total de la progenie producida por una hembra de *C. flacilla* (Ode y Heinz, 2002).

e. Tamaño de tibia posterior:

El tamaño de las tibias posteriores es usado para expresar el tamaño corporal del parasitoide adulto (Eben et al., 2000; Salvo y Valladares, 2002). De

esta manera, se hizo la medición de las tibias del tercer par de patas de la progenie de parasitoides producidos por prueba de No Elección y Elección, usando el microscopio estereoscópico con ocular micrométrico. De la progenie producida de cada combinación en las pruebas de No Elección y de Elección, se seleccionaron al azar 15 individuos hembras y 15 individuos machos. Debido a que en la especie *C. flacilla* se suele presentar una baja cantidad de machos en su progenie (Salvo y Valladares, 2002), en algunas de las pruebas realizadas el número de machos evaluados para la medición de sus tibias fue menor a 15.

4.2.3 Procedimiento de análisis e interpretación de resultados

Los resultados obtenidos fueron organizados y tabulados en Excel 2010 en diferentes tablas por prueba realizada. El efecto de la interacción del minador y la planta hospedera sobre los aspectos biológicos del parasitoide, es decir, longevidad, supervivencia, reproducción, proporción sexual y longitud del tercer par de tibias, fueron determinadas mediante el análisis de varianza (ANVA). Para detectar diferencias significativas entre tratamientos se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey ($P > 0.5$). Todos los análisis se llevaron a cabo usando el programa estadístico JMP (versión 8.0).

5 RESULTADOS

5.1 Pruebas de No Elección

En esta prueba se evaluó el desempeño de las asociaciones planta-minador que luego fueron utilizadas en las pruebas de elección. El parasitoide tuvo como opción solo un sistema de prueba para interactuar.

5.1.1 Longevidad

El análisis de los factores en estudio muestra que el número promedio de días de vida de *C. flacilla* fue afectado principalmente por la asociación planta-minador en que transcurrió la vida adulta del parasitoide ($\chi^2=131.36$, $gl=2$, $P<0.0001$). No se observaron efectos debido al sistema de procedencia del adulto ($\chi^2=2.20$, $gl=2$, $P=0.332$), ni a la interacción de ambos factores ($\chi^2=5.05$, $gl=4$, $P=0.281$).

La longevidad fue similar entre los sistemas de procedencia del parasitoide, con un promedio general de 9.5 ± 0.6 días (Ver Figura N°13). Las diferencias se observaron entre las asociaciones minador-planta en que se desarrolló el adulto, con la mayor longevidad promedio en el sistema haba-*L. huidobrensis*, (16.4 ± 1.3 días) seguido de Maíz-*L. graminivora* (8.8 ± 0.7 días) y el menor tiempo de vida en el sistema papa-*L. huidobrensis* (3.8 ± 0.2 días) (Ver Figura N°14).

El factor procedencia del parasitoide se comporta de manera similar en cada nivel de asociación planta-minador, indicando que no existe interacción entre el sistema de procedencia y la asociación planta-minador en el tiempo de vida del adulto de *C. flacilla*. Por lo tanto, los adultos de *C. flacilla* registraron la mayor longevidad cuando fueron expuestos a la asociación haba-*L. huidobrensis*, independientemente de su procedencia como se ilustra en la Figura N°15.

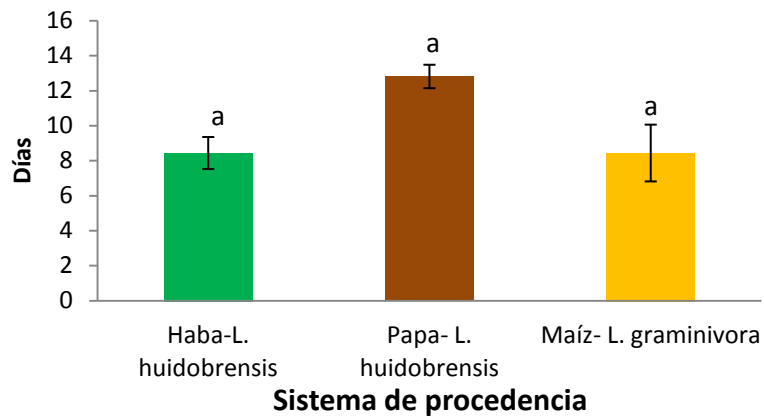


Figura N° 13 Promedio de vida en días del adulto de *C. flacilla* según el sistema de procedencia.

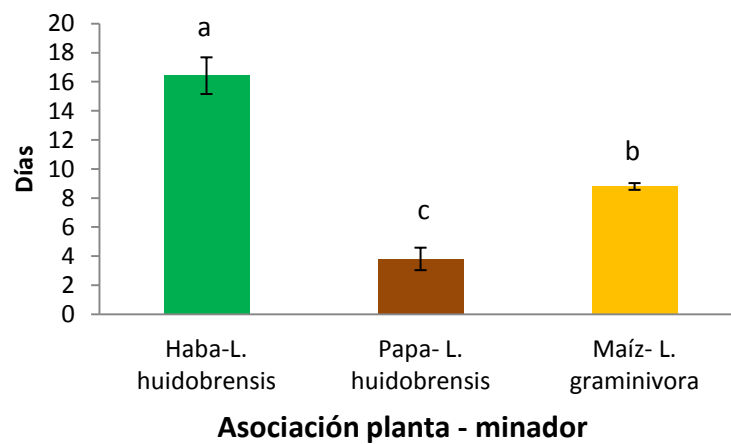


Figura N° 14 Promedio de vida en días del adulto de *C. flacilla* según la asociación planta – minador.

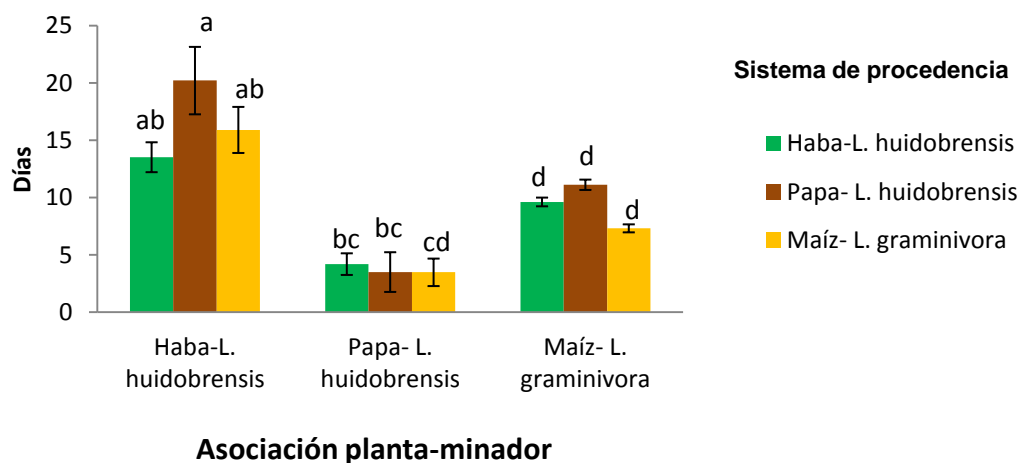


Figura N° 15 Promedio de vida en días del adulto de *C. flacilla* según la interacción de ambos factores.

5.1.2 Curvas de supervivencia

Las curvas de supervivencia de *C. flacilla* obtenidas para las tres asociaciones minador-planta en cada sistema de procedencia se presentan en las Figuras N°16, N°17 y N°18.

En el **sistema de procedencia haba-*L. huidobrensis*** se hallaron diferencias significativas entre las curvas de supervivencia de las tres asociaciones planta-minador evaluados (Prueba Log-rank, $\chi^2=56.14$, $gl=2$, $P<0.0001$). El 50% de las hembras de la población de *C. flacilla* sobrevivieron hasta el día 12, 4 y 10 para las asociaciones haba-*L. huidobrensis*, papa-*L. huidobrensis* y maíz-*L. graminivora*, respectivamente (Ver Figura N°16). Las hembras de *C. flacilla* desarrolladas sobre cada una de las asociaciones presentaron en su inicio una curva tipo I, ya que durante los primeros días de vida adulta la mortalidad fue nula. En la asociación haba-*L. huidobrensis*, la mortalidad empieza al segundo día de vida y luego la curva describe una pendiente abrupta, En las asociaciones papa-*L. huidobrensis* y maíz-*L. graminivora* las curvas adquieren una apariencia tipo II, pues los parasitoides adultos comenzaron a morir en forma más o menos constante.

La supervivencia de las hembras de *C. flacilla* en el **sistema de procedencia Papa – *L. huidobrensis*** registró diferencias significativas entre las curvas de las tres asociaciones planta-minador (Prueba Log-rank, $\chi^2=36.85$, $gl=2$, $P<0.0001$). El 50% de las hembras de la población de *C. flacilla* sobrevivieron hasta el día 21 en haba-*L. huidobrensis*, 3.5 días en papa-*L. huidobrensis* y 10 en maíz-*L. graminivora* (Ver Figura N°17). En la curva de supervivencia de las hembras de *C. flacilla* desarrolladas en la asociación papa-*L. huidobrensis*, la mortalidad empieza a edades más tempranas (día 2) con una fuerte pendiente que describe una alta mortalidad. La asociación maíz-*L. graminivora* tuvo una alta supervivencia hasta el décimo día de vida (>80%) y luego cae abruptamente (31%), para finalmente comenzar a morir en forma constante.

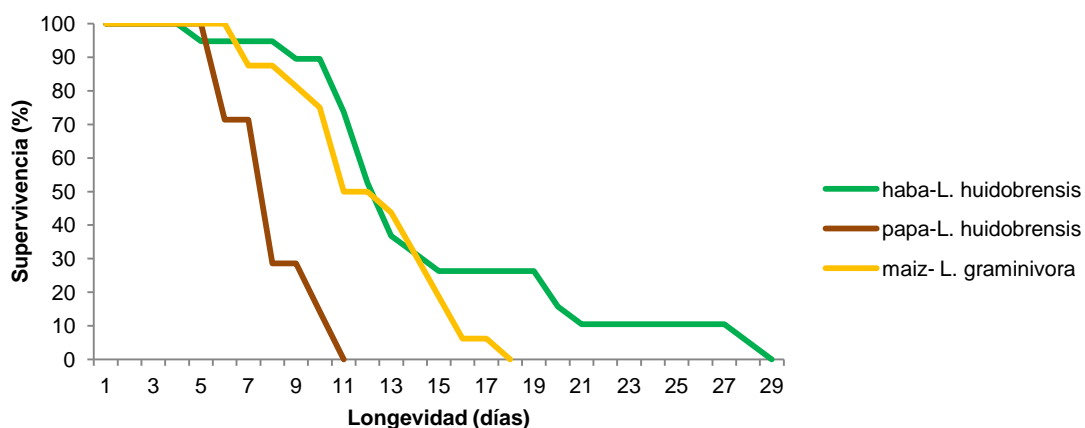


Figura N° 16 Curvas de supervivencia de *C. flacilla* de procedencia Haba – *L. huidobrensis* sobre las tres asociaciones planta - minador evaluadas.

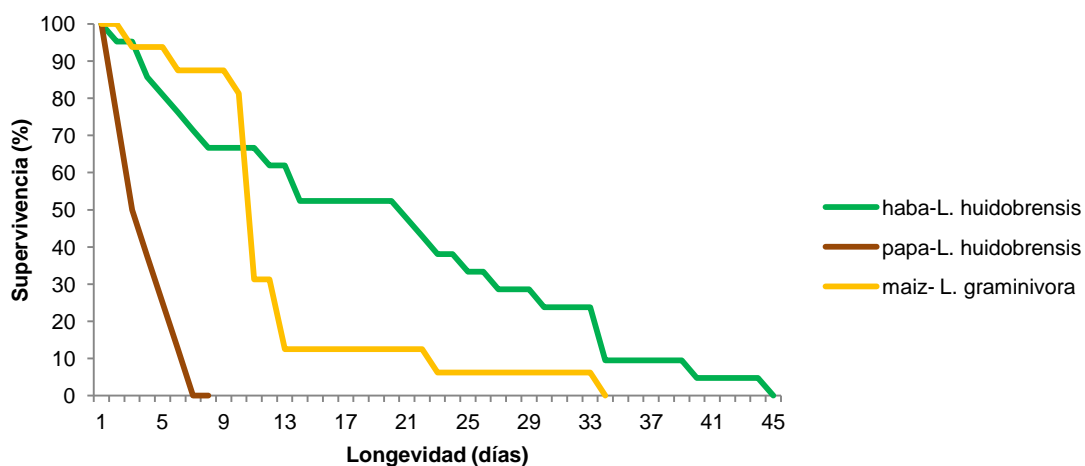


Figura N° 17 Curvas de supervivencia de *C. flacilla* de procedencia Papa – *L. huidobrensis* sobre las tres asociaciones planta - minador evaluadas.

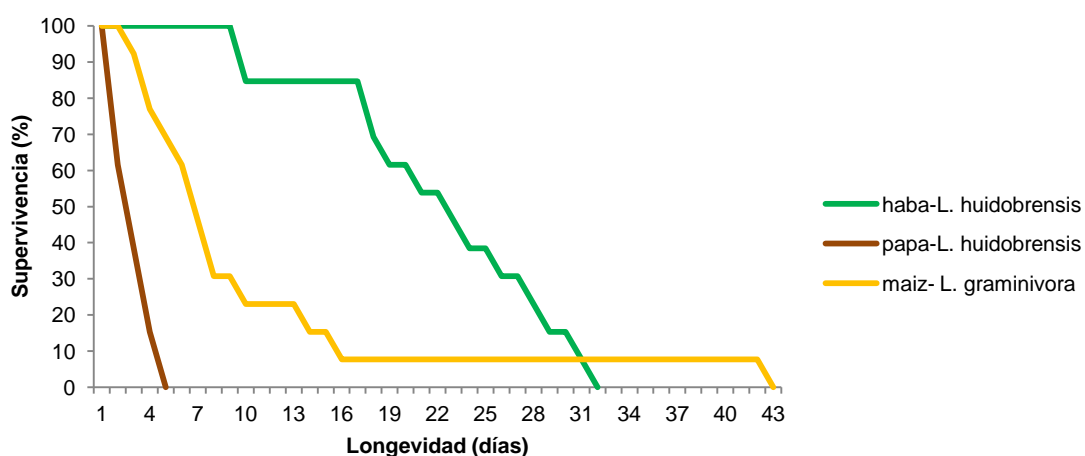


Figura N° 18 Curvas de supervivencia de *C. flacilla* de la procedencia Maíz – *L. graminivora* sobre las tres asociaciones planta - minador evaluadas.

En la asociación haba-*L.huidobrensis* la curva tiene la forma de una diagonal descendente con una mortalidad más o menos constante en cada tramo de edad, denominada tipo II.

En el **sistema de procedencia Maíz – *L. graminivora*** se encontraron diferencias significativas entre las curvas de supervivencia de las tres asociaciones planta-minador evaluados (Prueba Log-rank, $\chi^2=38.6$, $gl=2$, $P<0.0001$). El 50% de las hembras de la población de *C. flacilla* sobrevivieron hasta el día 17, 3 y 5 para las asociaciones haba-*L. huidobrensis*, papa-*L.huidobrensis* y maíz-*L. graminivora*, respectivamente (Ver Figura N°18). Las hembras de *C. flacilla* desarrolladas en las asociaciones papa-*L.huidobrensis* y maíz-*L. graminivora* presentaron similar tendencia en la curva de supervivencia pero con una mortalidad más rápida en la asociación papa-*L.huidobrensis*. En la asociación haba-*L. huidobrensis* la curva de supervivencia es de tipo II donde los parasitoides adultos mueren en forma más o menos constante.

En cada uno de los sistemas de procedencia evaluados, la mayor supervivencia del adulto de *C. flacilla* correspondió a la asociación haba-*L. huidobrensis*.

5.1.3 Producción de progenie

El análisis de los factores en estudio muestra que el promedio de la progenie de *C. flacilla* fue afectado por el sistema de procedencia ($\chi^2=256.1$, $gl=2$, $P<0.0001$), por la asociación planta-minador ($\chi^2=3230.3$, $gl=2$, $P<0.0001$) y por la interacción de ambos factores ($\chi^2=701.9$, $gl=4$, $P<0.0001$).

Entre los sistemas de procedencia del parasitoide, la mayor progenie se registró en el sistema papa-*L. huidobrensis* (68.1 ± 9.2 individuos/ hembra), seguido del sistema haba-*L. huidobrensis*, (28.3 ± 4.0 individuos/ hembra), y finalmente el sistema Maíz-*L. graminivora* (17.1 ± 3.6 individuos/ hembra) (Ver Figura N°19). En las asociaciones planta - minador, la mayor progenie se recuperó en la asociación haba-*L.*

huidobrensis, (55.7 ± 7.0 individuos/ hembra) seguido de Maíz-*L. graminivora* (40.8 ± 5.4 días) y la menor descendencia en la asociación papa-*L. huidobrensis* (3.7 ± 1.0 individuos/ hembra) (Ver Figura N°20).

La interacción entre los sistemas de procedencia y las asociaciones planta-minador indican que la mayor descendencia de hembras de *C. flacilla* que se obtuvo, fueron de los parasitoides del sistema de procedencia Papa-*L. huidobrensis* expuestos a las asociaciones Haba-*L. huidobrensis* (93.2 progenie/hembra) y Maíz-*L. graminivora* (87.1 progenie/hembra) (Ver Figura N°21). Por otro lado, la menor progenie se obtuvo en la asociación papa-*L. huidobrensis* de hembras provenientes de los tres sistemas estudiados con valores de 6 (haba-*L. huidobrensis*) y 1.7 progenie/hembra (Papa-*L. huidobrensis* y Maíz-*L. graminivora*).

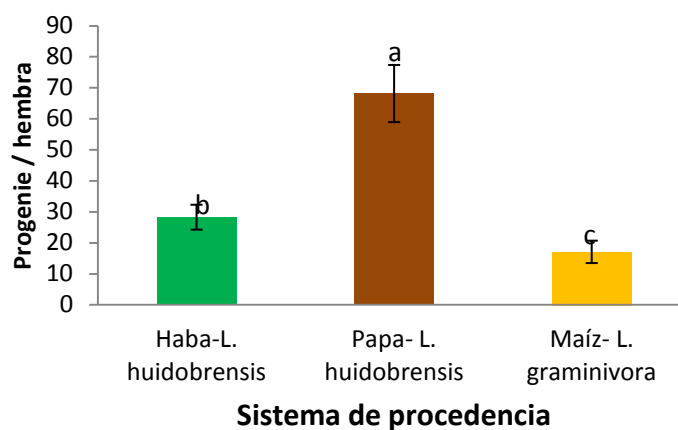


Figura N° 19 Progenie promedio de los adultos de *C. flacilla* según el sistema de procedencia.

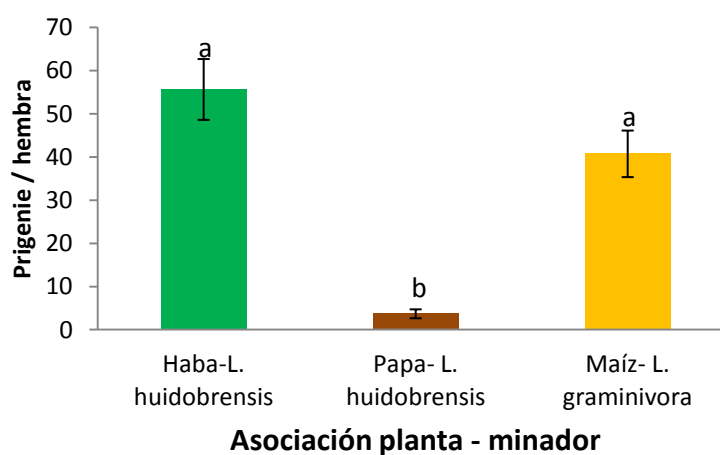


Figura N° 20 Progenie promedio de los adultos de *C. flacilla* según la asociación planta – minador.

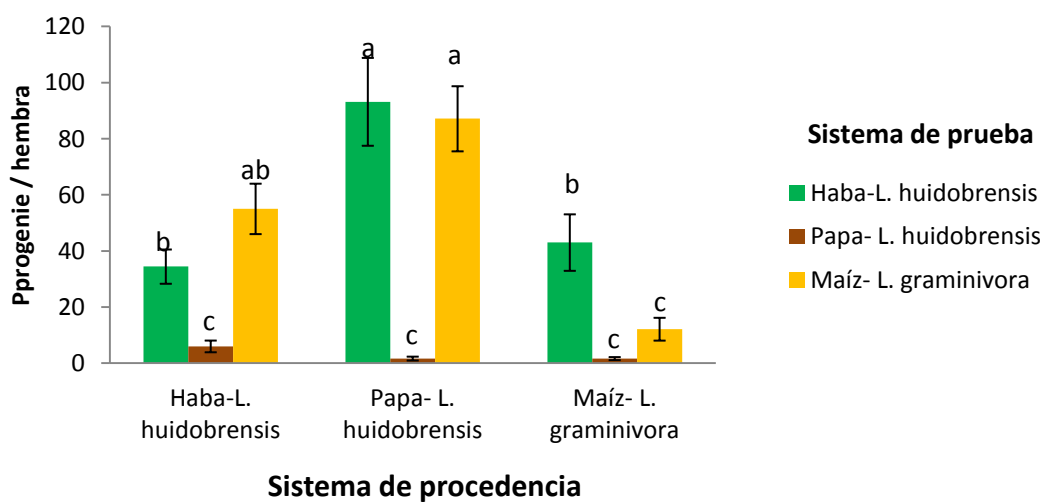


Figura N° 21 Progenie promedio de los adultos de *C. flacilla* según la interacción de ambos factores.

5.1.4 Curvas de fecundidad

Las curvas de fecundidad específica por edades obtenidas para las tres asociaciones minador-planta en cada sistema de procedencia se presentan en las Figuras N° 22, N°23 y N°24.

En el **sistema de procedencia haba-*L.huidobrensis*** la duración aproximada del periodo reproductivo fue de 27 días en la asociación haba-*L. huidobrensis*, 7 días en papa-*L. huidobrensis* y 17 días en maíz-*L. graminivora* (Ver Figura N°22). No se observó periodo de pre-oviposición en ninguna de las asociaciones planta-minador. En las tres asociaciones planta-minador el pico máximo de fecundidad se presentó a los 4 días de edad del parasitoide con valores de 5.8, 8.3 y 9.3 para las asociaciones haba-*L. huidobrensis*, papa-*L. huidobrensis* y maíz-*L.graminivora*, respectivamente. La mayor tasa de fecundidad media se encontró en la asociación maíz-*L. graminivora* (4.2 individuos/ hembra/día), seguido de las asociaciones papa-*L. huidobrensis* y haba-*L. huidobrensis* con 2.4 y 1.6 individuos/hembra/día. Por consiguiente, la fecundidad de la hembra de *C. flacilla* proveniente de haba-*L. huidobrensis* presentó un mejor desempeño en la asociación maíz-*L. graminivora*. El 50% de la oviposición fue alcanzado el día 3 en la asociación papa-*L. huidobrensis*, mientras que las asociaciones haba- *L. huidobrensis* y maíz- *L. graminivora* lo lograron al día 6 (Ver Figura N°25).

Las hembras de *C. flacilla* **provenientes del sistema papa-*L. huidobrensis*** tuvieron un periodo reproductivo de 44 días en la asociación haba-*L. huidobrensis*, 7 días en papa-*L. huidobrensis* y 33 días en maíz-*L. graminivora* (Ver Figura N°23). No se observó periodo de pre-oviposición en ninguna de las asociaciones planta-minador. El pico máximo de fecundidad se presentó a los 2 días de edad del parasitoide, para las asociaciones haba-*L. huidobrensis* (7.4 individuos/hembra/día) y maíz-*L.graminivora* (9 individuos/hembra/día), y el primer día para la asociación papa-*L. huidobrensis* (2.4 individuos/hembra/día). La mayor tasa de fecundidad media se

encontró en la asociación maíz-*L. graminivora* (2.8 individuos/ hembra/día), seguido de las asociaciones haba-*L. huidobrensis* y papa-*L. huidobrensis* con valores de 1.9 y 0.4 individuos/hembra/día, respectivamente. Por tanto, la hembra de *C. flacilla* proveniente de papa-*L. huidobrensis* presentó un mejor desempeño en la asociación maíz-*L. graminivora*. El 50% de la oviposición fue alcanzado el día 10, 1 y 6 para las asociaciones haba-*L. huidobrensis*, papa-*L. huidobrensis* y maíz-*L. graminivora*, respectivamente (Ver Figura N°26).

El mayor periodo reproductivo de las hembras de ***C. flacilla* provenientes del sistema maíz-*L. graminivora*** se observaron en la asociación maíz-*L. graminivora* (42 días), seguido de las asociaciones haba-*L. huidobrensis* (31 días) y papa-*L. huidobrensis* (8 días) (Ver Figura N°24). No se observó periodo de pre-oviposición en ninguna de las asociaciones planta-minador. El pico máximo de fecundidad se presentó a los 12 días de edad del parasitoide para la asociación haba-*L. huidobrensis* (5 individuos/hembra/día), al cuarto día para maíz-*L. graminivora* (3.5 individuos/hembra/día), y el primer día para la asociación papa-*L. huidobrensis* (1.9 individuos/hembra/día). La mayor tasa de fecundidad media se encontró en la asociación haba-*L. huidobrensis* (2.2 individuos/ hembra/día), seguido de las asociaciones maíz-*L. graminivora* y papa-*L. huidobrensis* con valores de 0.7 y 0.5 individuos/hembra/día, respectivamente. Por tanto, la hembra de *C. flacilla* proveniente de maíz-*L. graminivora* presentó un mejor desempeño en la asociación haba-*L. huidobrensis*. El 50% de las oviposiciones para las asociaciones haba-*L. huidobrensis*, papa-*L. huidobrensis* y maíz-*L. graminivora*, fueron alcanzadas en el día 13, 1 y 4 respectivamente (Ver Figura N°27).

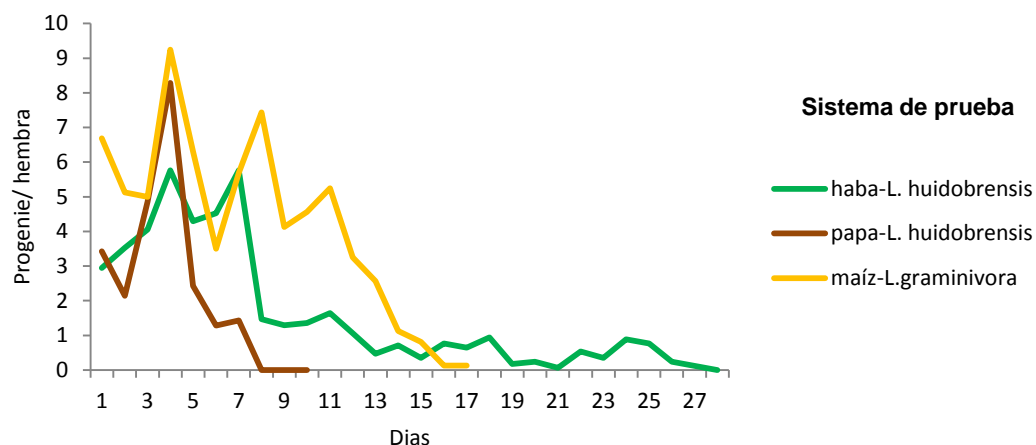


Figura N° 22 Curvas de fecundidad de la procedencia de *C. flacilla* Haba – *L. huidobrensis* sobre las tres asociaciones planta - minador evaluadas.

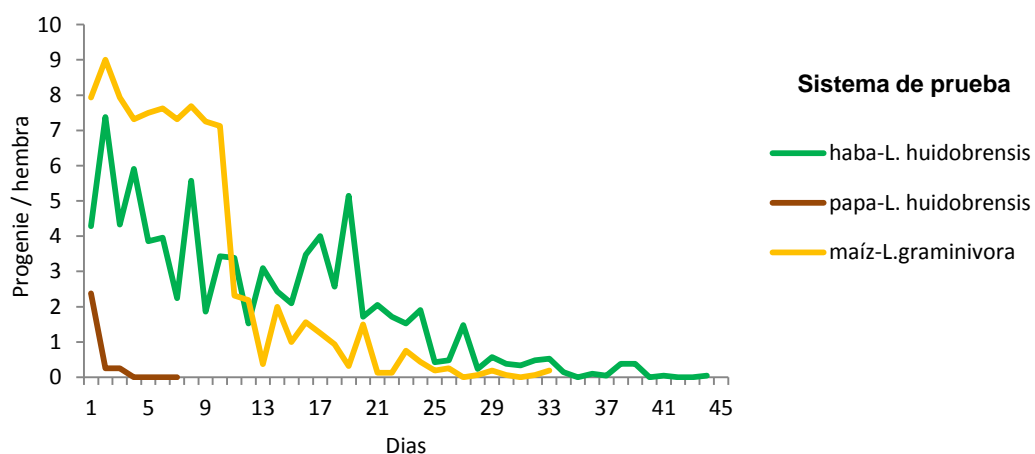


Figura N° 23 Curvas de fecundidad de procedencia de *C. flacilla* Papa – *L. huidobrensis* sobre las tres asociaciones planta - minador evaluadas.

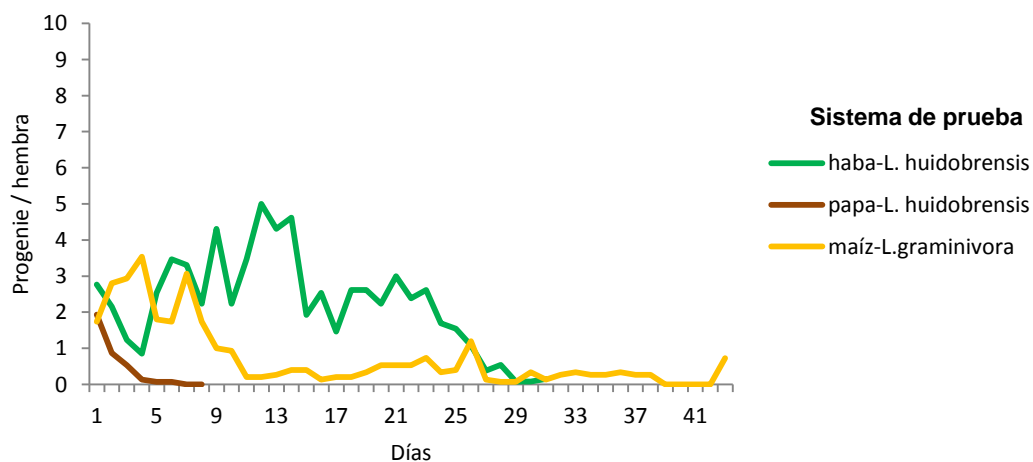


Figura N° 24 Curvas de fecundidad de la procedencia de *C. flacilla* Maíz – *L. graminivora* sobre las tres asociaciones planta - minador evaluadas.

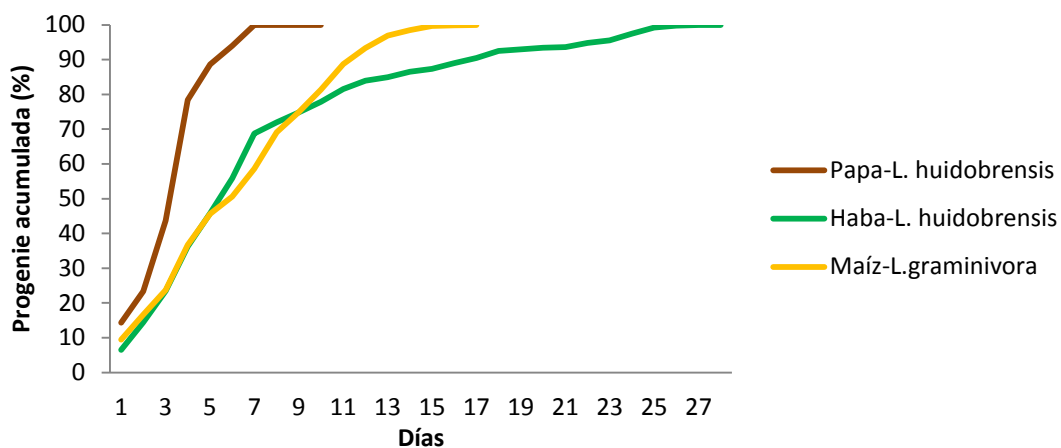


Figura N° 25 Curvas de progenie acumulada de la procedencia de *C. flacilla*: Haba – *L. huidobrensis* sobre las tres asociaciones planta - minador evaluadas.

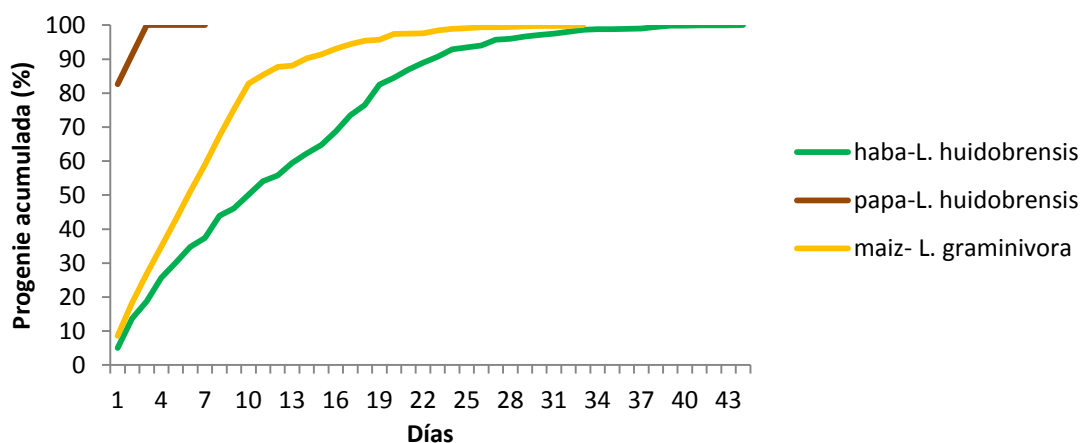


Figura N° 26 Curvas de progenie acumulada de la procedencia de *C. flacilla*: Papa – *L. huidobrensis* sobre las tres asociaciones planta - minador evaluadas.

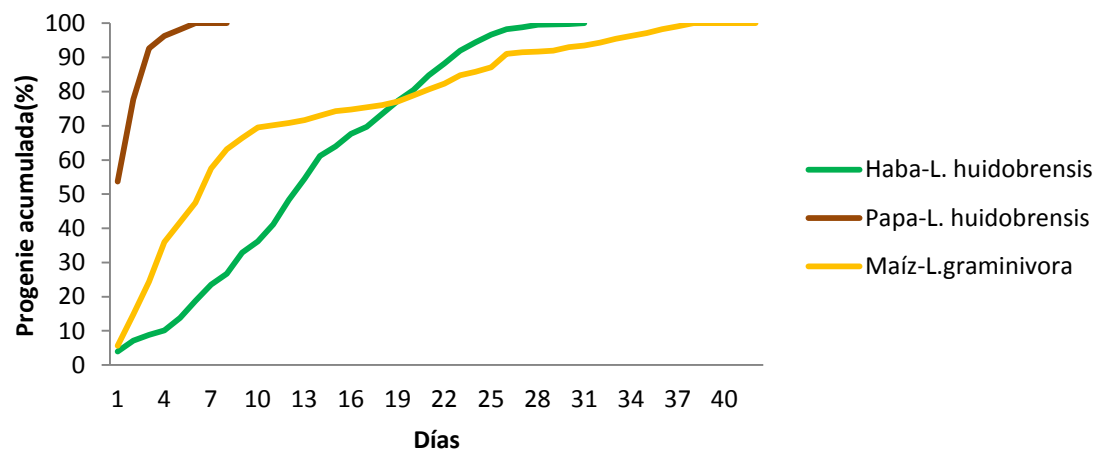


Figura N° 27 Curvas de progenie acumulada de la procedencia de *C. flacilla*: Maíz – *L. graminivora* sobre las tres asociaciones planta - minador evaluadas

5.1.5 Proporción sexual

La proporción sexual (Nº machos/Nº hembras) de la progenie de *C. flacilla* obtenido para cada sistema de procedencia y asociación planta-minador se presenta en la Tabla Nº2.

El análisis de los factores en estudio muestra que la asociación planta-minador influyó significativamente en la proporción sexual (Nº machos/Nº hembras) de la progenie de *C. flacilla* ($\chi^2=19.71$, $gl=2$, $P<0.0001$). El sistema de procedencia del adulto no influyó en la proporción sexual de la progenie de *C. flacilla* el ($\chi^2=4.68$, $gl=2$, $P=0.096$). Sin embargo, la interacción de los dos factores resultó significativa ($\chi^2=5.05$, $gl=4$, $P=0.281$).

En general, la proporción sexual de la descendencia de *C. flacilla* fue similar en los tres sistemas de procedencia del parasitoide, con una alta proporción de hembras (>75%) en todas las combinaciones observadas. Sin embargo, en la asociación **maíz-L. graminivora**, las hembras provenientes de su mismo sistema produjeron 56% de hembras correspondiendo a la menor tasa de hembras de todas las combinaciones, lo que equivale a una proporción sexual de 1.2 machos por hembra.

Tabla Nº 2 Proporción sexual de los sistemas de procedencia de *C. flacilla* en cada asociación planta – minador. Los valores que presentan letras diferentes, son diferentes significativamente.

Sistema de procedencia	Asociación planta-minador	n	Machos: Hembra
Haba- <i>L. huidobrensis</i>	Haba- <i>L. huidobrensis</i>	19	0.26 : 1 (b)
	Papa- <i>L. huidobrensis</i>	20	0.01 : 1 (b)
	Maíz- <i>L. graminivora</i>	14	0.51 : 1 (ab)
Papa- <i>L. huidobrensis</i>	Haba- <i>L. huidobrensis</i>	16	0.39 : 1 (b)
	Papa- <i>L. huidobrensis</i>	8	0.01 : 1 (b)
	Maíz- <i>L. graminivora</i>	15	0.16 : 1 (b)
Maíz- <i>L. graminivora</i>	Haba- <i>L. huidobrensis</i>	20	0.25 : 1 (b)
	Papa- <i>L. huidobrensis</i>	16	0.01 : 1 (b)
	Maíz- <i>L. graminivora</i>	17	1.10 : 1 (a)

5.2 Pruebas de Elección

En esta prueba el parasitoide tuvo como opción tres sistemas de prueba para interactuar.

5.2.1 Longevidad

El sistema de procedencia del adulto de *C. flacilla* influyó significativamente en el tiempo de vida del parasitoide ($\chi^2=8.64$, $gl=2$, $P=0.0133$). Los adultos provenientes del sistema papa-*L. huidobrensis* vivieron significativamente más tiempo (20.5 días) que los provenientes de los sistemas haba-*L. huidobrensis* (3.12 días) y maíz-*L. graminivora* (3.07 días), cuando fueron expuestos separadamente a las mismas asociaciones planta-minador (Ver Figura N°28).

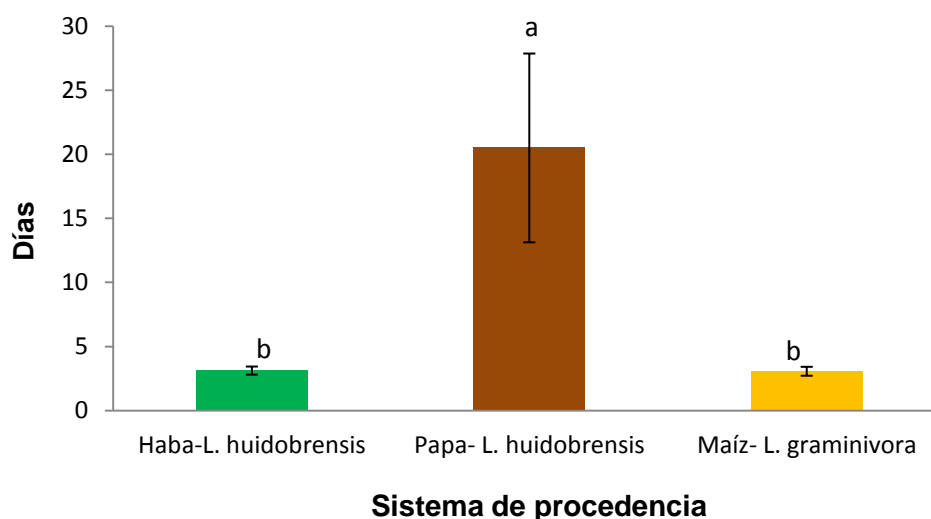


Figura N° 28 Número promedio de vida en días de los adultos de *C. flacilla* en tres diferentes sistemas de procedencia del adulto en pruebas de elección.

5.2.2 Curvas de supervivencia

Las curvas de supervivencia obtenidas para cada sistema de procedencia se presentan en la Figura N°29.

Se encontraron diferencias significativas entre las curvas de supervivencia de los tres sistemas de procedencia del adulto de *C. flacilla* (Prueba Log-rank, $\chi^2=12.2$, $gl=2$, $P=0.0022$). El 50% de las hembras de la población de *C. flacilla* sobrevivieron hasta el día 3, 3 y 20 para los sistemas de procedencia haba-*L. huidobrensis*, maíz-*L. graminivora* y papa-*L. huidobrensis*, respectivamente. Las hembras de *C. flacilla* desarrolladas en las asociaciones haba-*L. huidobrensis* y maíz-*L. graminivora* presentaron una tendencia similar con una fuerte pendiente que describe una alta mortalidad. En la asociación papa-*L. huidobrensis* la curva de supervivencia es de tipo II donde los parasitoides adultos mueren en forma más o menos constante.

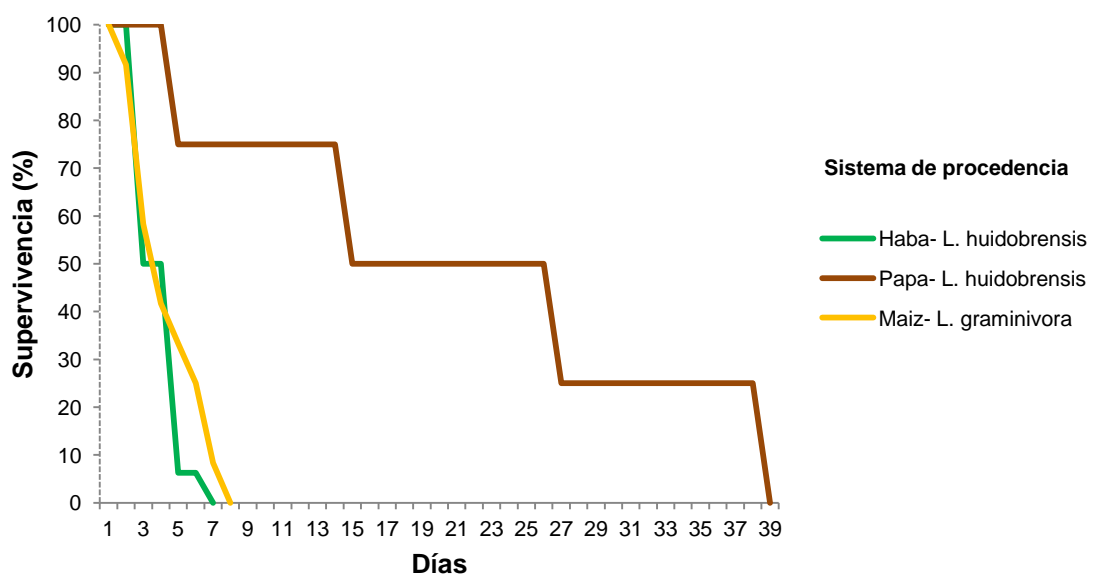


Figura N° 29 Curvas de supervivencia de *C. flacilla* en tres diferentes sistemas de procedencia del adulto en pruebas de elección.

5.2.3 Producción de progenie

El número promedio de descendencia producida por la hembra de *C.flacilla* para las tres asociaciones planta-minador en cada sistema de procedencia se presenta en la Figura N°20.

El análisis de los factores en estudio en la prueba de preferencia muestra que el promedio de la progenie de *C. flacilla* fue afectado por el sistema de procedencia ($\chi^2=44.84$, $gl=2$, $P<.0001$), más no por la asociación planta-minador del parasitoide ($\chi^2=3.28$, $gl=2$, $P=0.193$) o por la interacción de ambos factores ($\chi^2=8.41$, $gl=4$, $P=0.0776$).

Entre los sistemas de procedencia del parasitoide, la mayor progenie se registró en el sistema papa-*L. huidobrensis* (88.8 ± 41.3 individuos/ hembra), siendo significativamente diferente de los sistemas haba-*L. huidobrensis*, (4.9 ± 0.82 individuos/ hembra) y maíz-*L. graminivora* (1.3 ± 0.4 individuos/ hembra) (Ver Figura N°30).

La proporción de progenie producida por la hembra procedente del sistema haba-*L. huidobrensis* fue similar en las tres asociaciones planta-minador con valores de 37.2% (haba-*L. huidobrensis*), 21.8% (papa-*L. huidobrensis*) y 41% (maíz-*L. graminivora*) (Ver Figura N°31). En la hembra procedente del sistema papa-*L. huidobrensis* observamos que el 61.4% de la progenie fue recuperado de la asociación maíz-*L.graminivora* y el 31.5% de haba-*L. huidobrensis*. En la hembra procedente del sistema maíz-*L. graminivora* el mayor porcentaje de la progenie fue ovipositado en las asociaciones relacionados con *L. huidobrensis* en papa (52.9%) y haba (44.1%). En líneas generales los resultados muestran que no hubo preferencia de la hembra de *C.flacilla* por ovipositar en el sistema planta-minador correspondiente a su sistema de origen.

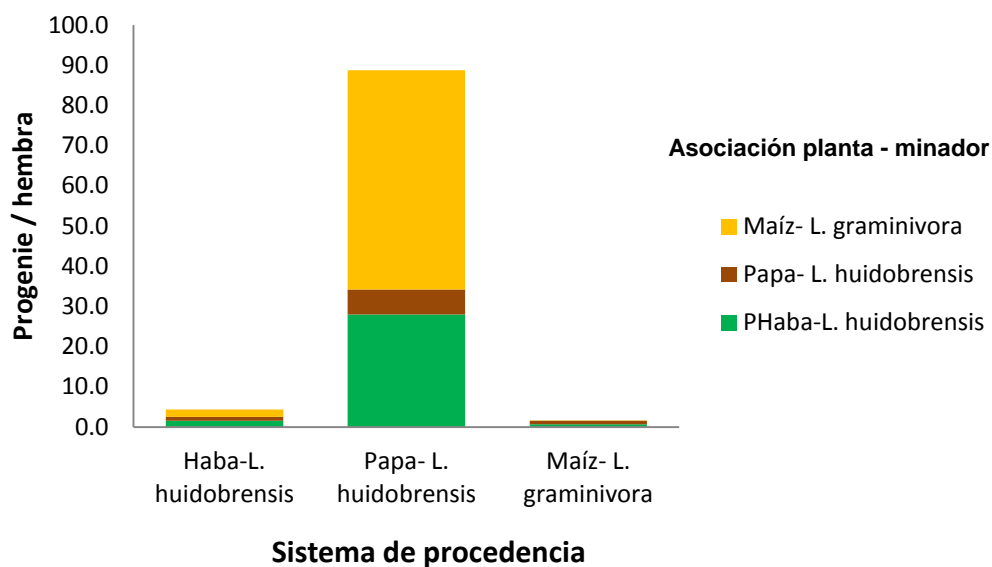


Figura Nº 30 Progenie promedio de *C. flacilla* expuesta a tres asociaciones planta-minador en cada sistema de procedencia.

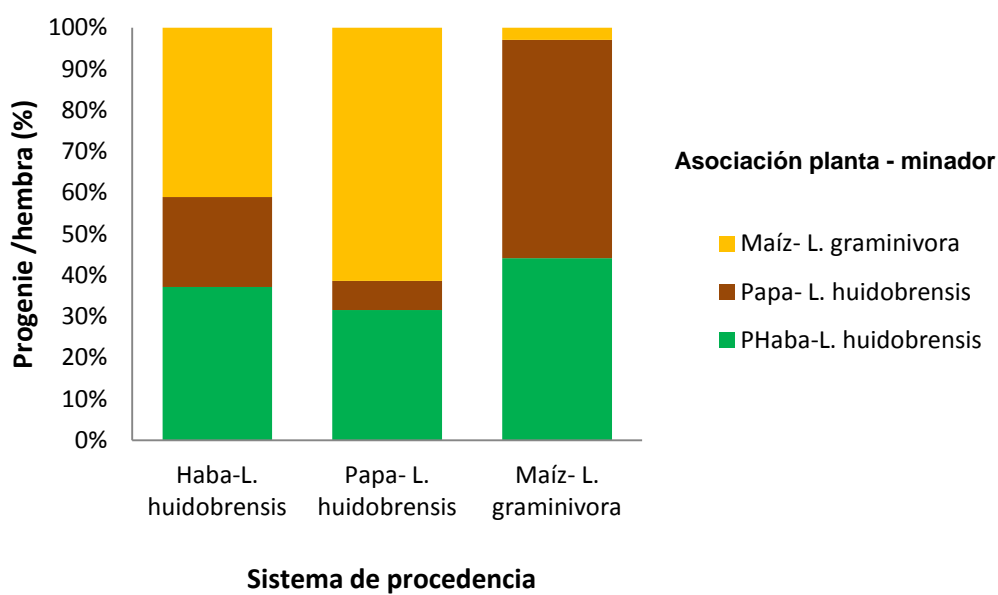


Figura Nº 31 Niveles de progenie de *C. flacilla* en porcentaje en las tres asociaciones planta – minador por cada sistema de procedencia .

5.2.4 Curvas de fecundidad

La tasa de fecundidad por edades obtenidas para los tres sistemas de procedencia se presentan en la Figura N°32. La Figura N°33 muestra la fecundidad relativa acumulada de cada sistema de procedencia.

En la prueba de elección, el mayor período reproductivo lo presentó la hembra de *C. flacilla* proveniente del sistema **papa-L. *huidobrensis***, seguido de **maíz-L. *graminivora*** y **haba-L.*huidobrensis***, con valores de 38, 7 y 6 días respectivamente (Ver Figura N°32). No se observó periodo de pre-oviposición en ningún caso. El pico máximo de fecundidad se presentó a temprana edad para las hembras provenientes de los sistemas maíz-L. *graminivora* (1.7 individuos/hembra/día) y haba-L. *huidobrensis* (2.1 individuos/hembra/día), alcanzado el primer y el segundo día de edad, respectivamente. En el caso de las hembras provenientes de papa-L. *huidobrensis*, el pico de fecundidad se presentó en el día 10 (5.5 individuos/hembra/día). La mayor tasa de fecundidad media se encontró en los parasitoides del sistema de procedencia papa-L. *huidobrensis* (2.3 individuos/hembra/día), seguido por los de los sistemas haba-L. *huidobrensis* y maíz-L. *graminivora* con valores de 0.8 y 0.4 individuos/hembra/día respectivamente.

Las diferencias en el tiempo de reproducción se ven reflejadas en la tasa acumulada de reproducción, donde las hembras de *C. flacilla* provenientes de los sistemas **maíz-L. *graminivora*** y **haba-L.*huidobrensis*** alcanzan el 50% de su oviposición al primer y segundo día de vida, respectivamente. En cambio, las hembras provenientes del sistema **papa-L. *huidobrensis*** lograron ovipositar el 50% de su descendencia el 12vo día.

Por lo tanto, las hembras de *C. flacilla* provenientes de papa-L. *huidobrensis* presentaron un mejor desempeño que aquellas provenientes de los sistemas haba-L. *huidobrensis* y maíz-L.*graminivora*.

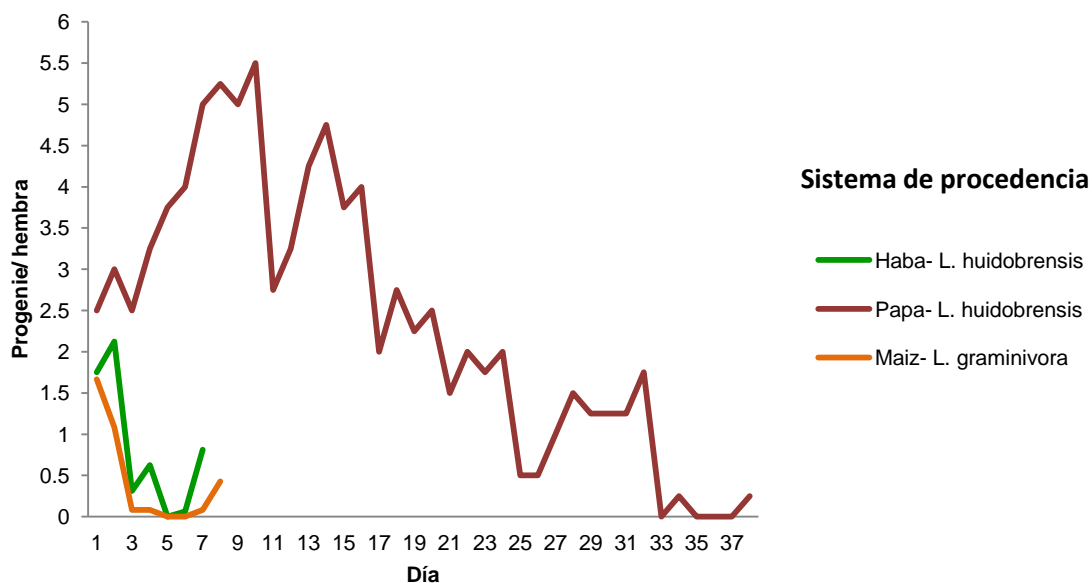


Figura N° 32 Comparación de curvas de fecundidad de las tres procedencias de *C. flacilla* en las Pruebas de Elección.

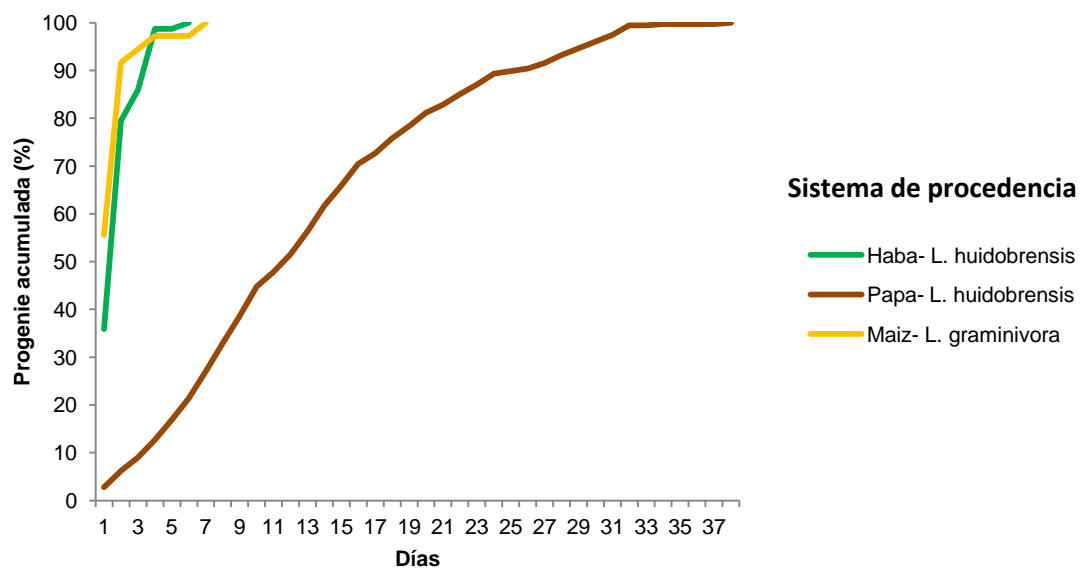


Figura N° 33 Comparación de curvas de progenie acumulada de las tres procedencias de *C. flacilla* en las Pruebas de Elección.

Las Figuras N°34, N°35 y N°36 muestran el comportamiento de oviposición de la hembra de *C. flacilla* expuesta a las tres asociaciones planta-minador en cada sistema de procedencia evaluado.

Sistema de procedencia haba-*L. huidobrensis*. El pico máximo de fecundidad se presentó el primer día de edad (0.7 individuos/hembra) en la asociación papa-*L. huidobrensis* y a los 2 días de edad del parasitoide en las asociaciones haba-*L. huidobrensis* y maíz-*L. graminivora* con valores de 1 y 0.8, respectivamente. La mayor tasa de fecundidad media se encontró en las asociaciones haba-*L. huidobrensis* y maíz-*L. graminivora* (0.3 individuos/ hembra/día), seguidos de la asociación papa-*L. huidobrensis* con un valor de 0.2 individuos/hembra/día.

Sistema de procedencia papa-*L. huidobrensis*. El pico máximo de fecundidad se presentó a los 7, 9 y 2 días de edad del parasitoide para las asociaciones maíz-*L. graminivora* (4.3 individuos/hembra/día), haba-*L. huidobrensis* (3.8 individuos/hembra/día), y papa-*L. huidobrensis* (0.8 individuos/hembra/día). La mayor tasa de fecundidad media se encontró en la asociación maíz-*L. graminivora* (1.4 individuos/ hembra/día), seguido de las asociaciones haba-*L. huidobrensis* y papa-*L. huidobrensis* con valores de 0.7 y 0.2 individuos/hembra/día, respectivamente.

Sistema de maíz-*L. graminivora*. El pico máximo de fecundidad se presentó en el primer día de edad del parasitoide para la asociación haba-*L. huidobrensis* (0.9 individuos/hembra/día), al segundo día para la asociación papa-*L. huidobrensis* (0.8 individuos/hembra/día) y también al primer día para la asociación maíz-*L. graminivora* (0.1 individuos/hembra/día). La mayor tasa de fecundidad media se encontró en la asociación haba-*L. huidobrensis* y papa-*L. huidobrensis* (0.2 individuos/ hembra/día), seguidos de la asociación maíz-*L. graminivora* con el valor de 0.01 individuos/hembra/día.

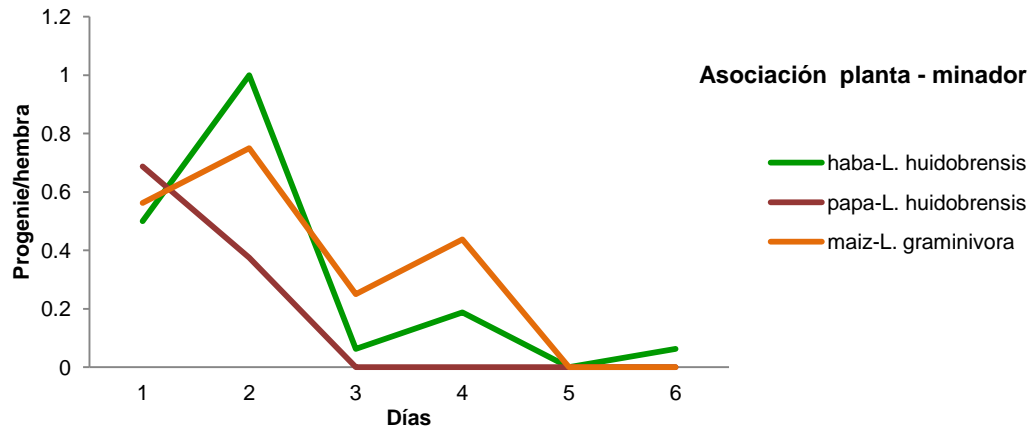


Figura Nº 34 Curvas de fecundidad de la procedencias de *C. flacilla*: Haba–*L. huidobrensis* sobre las tres asociaciones planta-minador evaluadas.

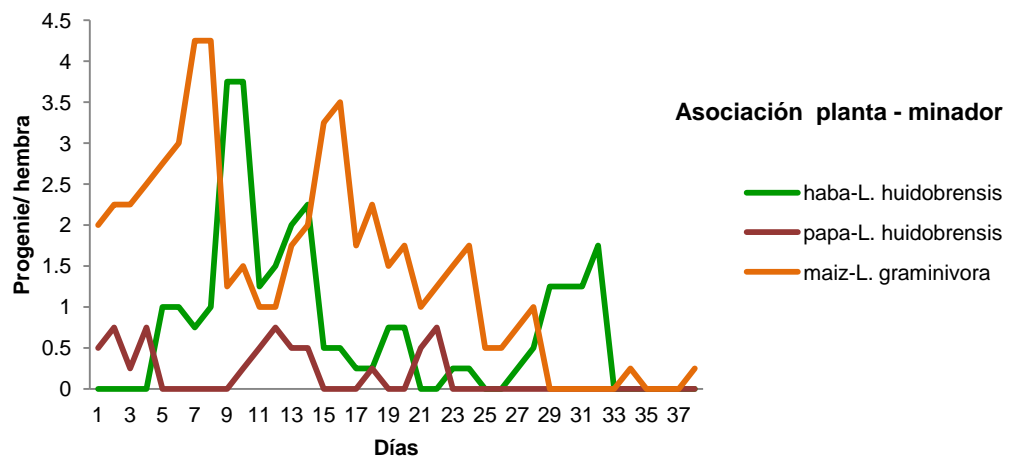


Figura Nº 35 Curvas de fecundidad de la procedencias de *C. flacilla*: Papa–*L. huidobrensis* sobre las tres asociaciones planta-minador evaluadas.

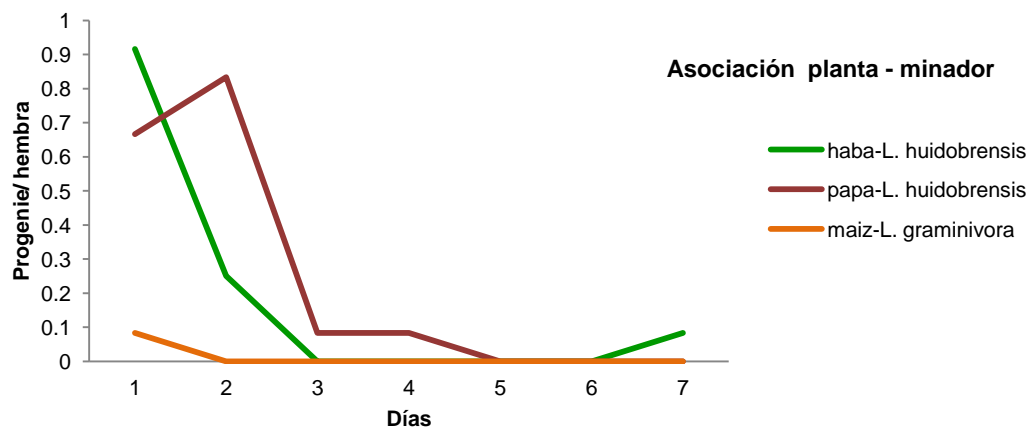


Figura Nº 36 Curvas de fecundidad de la procedencia de *C. flacilla*: Maíz–*L. graminivora* sobre las tres asociaciones planta-minador evaluadas.

5.2.5 Proporción sexual

El análisis de los factores en estudio muestra que no hubo influencia del sistema de procedencia de la hembra de *C. flacilla* ($\chi^2=0.28$, $gl=2$, $P=0.868$), de la asociación planta-minador ($\chi^2=0.63$, $gl=2$, $P=0.634$) o de la interacción de ambos factores ($\chi^2=0.73$, $gl=4$, $P=0.947$) en la proporción sexual (Nº machos/ Nº hembras) de la progenie de *C. flacilla*.

La proporción sexual de los diferentes sistemas de procedencia de la hembra de *C. flacilla* fue de 0.01, 0.12 y 0.07 macho por cada hembra para los sistemas haba-*L. huidobrensis*, papa-*L. huidobrensis* y maíz-*L. graminivora*, respectivamente. En promedio, los diferentes sistemas de procedencia del parasitoide produjeron 91% de hembras.

5.3 Comparación de parámetros biológicos de *C. flacilla* entre las pruebas de Elección versus No elección

5.3.1 Comparación de la longevidad de *C. flacilla*

Las Figuras N°37, N°38 y N°39 comparan el tiempo de vida del adulto de *C. flacilla* entre las pruebas de elección y su respectiva asociación planta-minador en la prueba de no elección para cada uno de los sistemas de procedencia.

Los adultos de *C. flacilla* criados en el sistema haba-*L. huidobrensis* vivieron menos en la prueba de elección (3.2 días) que en la de no elección (13.5 días). El mismo comportamiento se observó en los adultos criados en el sistema maíz-*L. graminivora* con menor longevidad en la prueba de elección (3.7 días) que en las de no elección (7.3 días). Lo contrario sucedió con los adultos provenientes del sistema papa-*L. huidobrensis* donde tiempo de vida de *C. flacilla* fue mayor en la prueba de elección (20.5 días) que en la de no elección (3.5 días).

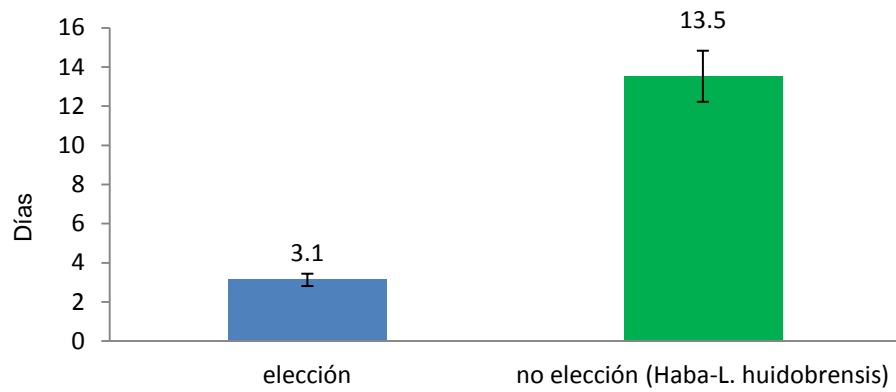


Figura N° 37 Comparación de los niveles promedio de la longevidad de *C. flacilla* entre las Pruebas de Elección vs No Elección para la procedencia: Haba – *L. huidobrensis*.

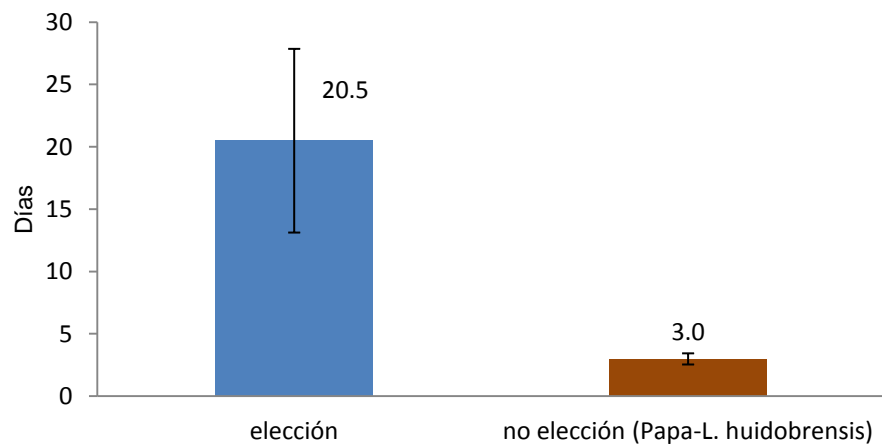


Figura N° 38 Comparación de los niveles promedio de la longevidad de *C. flacilla* entre las Pruebas de Elección vs No Elección para la procedencia: Papa – *L. huidobrensis*.

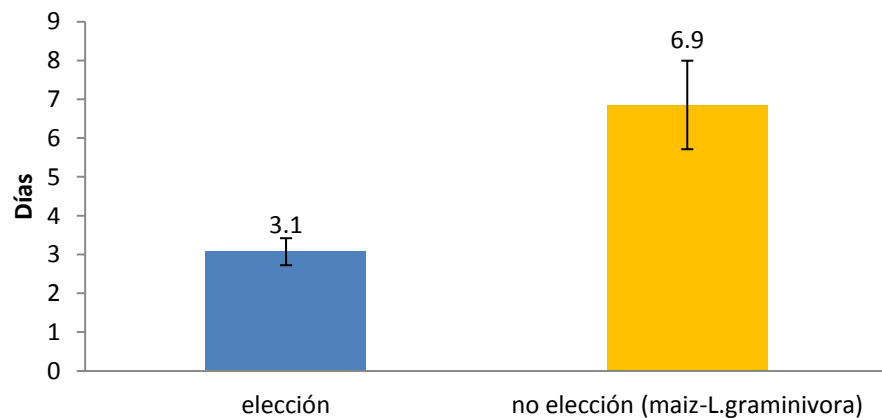


Figura N° 39 Comparación de los niveles promedio de la longevidad de *C. flacilla* entre las Pruebas de Elección vs No Elección para la procedencia: Maíz – *L. graminivora*.

5.3.2 Comparación de la fecundidad de *C. flacilla*

La comparación de la progenie promedio de *C. flacilla* entre las pruebas de elección y su respectiva asociación planta-minador en la prueba de no elección para cada uno de los sistemas de procedencia se muestran en las Figuras N° 40, N°41 y N°42.

Los adultos de *C. flacilla* criados en el sistema haba-*L. huidobrensis* produjeron una menor descendencia en la prueba de elección (total: 4.9 individuos/hembra y en haba-*L. huidobrensis*: 1.6 individuos/hembra) que en su correspondiente planta-minador (haba-*L. huidobrensis*) en la prueba de no elección (34.4 individuos/hembra); lo que significó una reducción del 87% en la reproducción total de la hembra de *C. flacilla* en la prueba de elección con respecto a la de no elección (Ver Figura N°40).

La misma tendencia se observó en el caso de los adultos criados en el sistema maíz-*L. graminivora*, donde la descendencia total de *C. flacilla* en la prueba de elección (total:1.6 individuos/hembra, maíz-*L. graminivora*:0.05 individuos/hembra) fue menor que en su correspondiente planta-minador (maíz-*L. graminivora*) en la prueba de no elección (12.1 individuos/hembra); lo que significó una reducción del 86% en la reproducción total de la hembra de *C. flacilla* en la prueba de elección con respecto a la de no elección (Ver Figura N°41).

Lo contrario sucedió con los adultos provenientes del sistema papa-*L. huidobrensis* donde la progenie de *C. flacilla* fue mayor en la prueba de elección (total:88.8 individuos/hembra, papa-*L. huidobrensis*: 6.3 individuos/hembra) que en la de no elección (1.7 individuos/hembra), recuperados de la misma asociación planta-minador; lo que significó un aumento de 98% en la reproducción total de la hembra de *C. flacilla* en la prueba de elección con respecto a la de no elección (Ver Figura N°42).

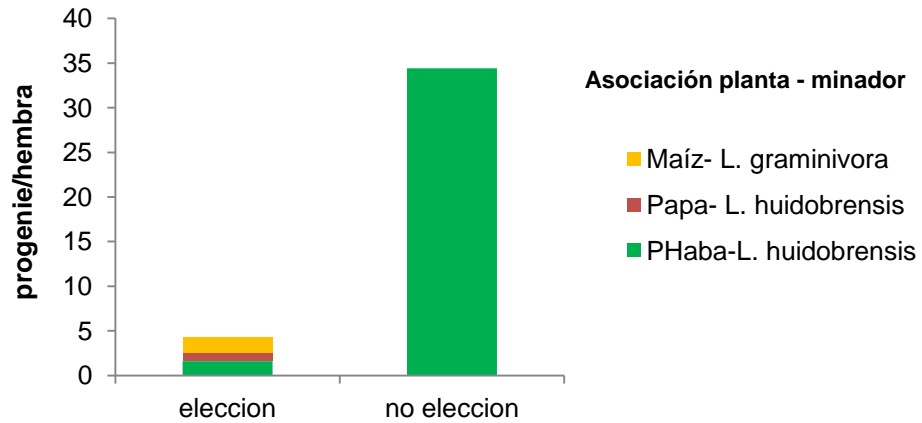


Figura N° 40 Comparación de los niveles de producción de progenie de *C. flacilla* de las Pruebas de Elección vs No Elección para la procedencia: Haba – *L. huidobrensis*.

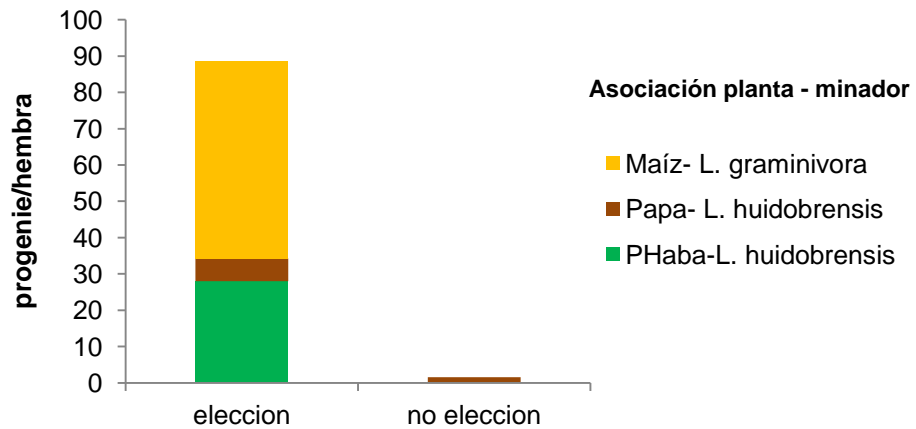


Figura N° 41 Comparación de los niveles de producción de progenie de *C. flacilla* de las Pruebas de Elección vs No Elección para la procedencia: Papa – *L. huidobrensis*.

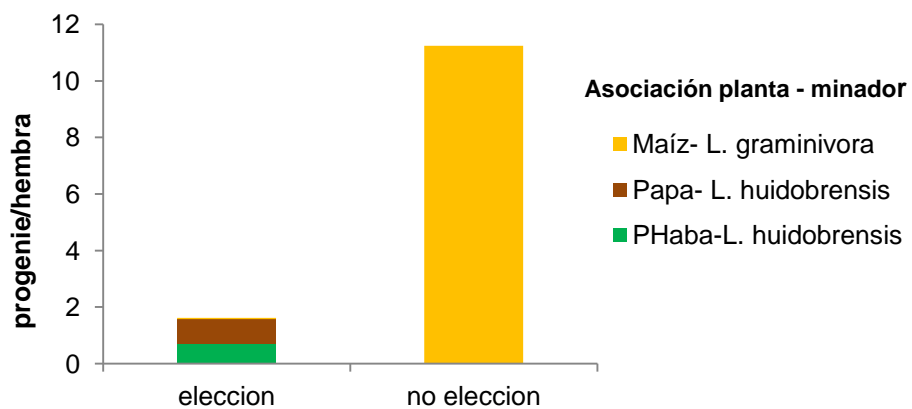


Figura N° 42 Comparación de los niveles de producción de progenie de *C. flacilla* de las Pruebas de Elección vs No Elección para la procedencia: Maíz – *L. graminivora*.

5.4 Tamaño de tibia posterior

Sobre las asociaciones planta – minador, en promedio, el mayor tamaño de tibia de las progenies de *C. flacilla* se registró de aquellos nacidos de las asociaciones haba-*L. huidobrensis* ($356 \pm 4.2 \mu\text{m}$), seguido de las asociaciones asociación Papa-*L. huidobrensis*, ($341.8 \pm 5.8 \mu\text{m}$), y finalmente en la asociaciones Maíz-*L. graminivora* ($296.5 \pm 3.8 \mu\text{m}$) ($\chi^2= 76.976$, $\text{gl}=2$, $P<0.0001$) (Ver Figura N° 43). Adicionalmente, también hubo diferencia significativa entre los sexos siendo mayor el tamaño de tibias en las hembras ($335.8 \pm 4.4 \mu\text{m}$) que en los machos ($321.6 \pm 4.0 \mu\text{m}$) ($\chi^2=4.18$, $\text{gl}=1$, $P=0.042$) (Ver Figura N° 43). Finalmente, en la Tabla N°3 se muestra los tamaños de tibia que alcanzaron los individuos de *C. flacilla*, tanto hembra como macho, luego de la interacción de las distintas procedencias sobre las diferentes asociaciones planta – minador ya mencionadas.

Tabla N° 3 Tamaño promedio de las tibias posteriores (μm) de la descendencia hembras y machos de las tres procedencias estudiadas del parasitoide *C. flacilla* en cada una de las asociaciones planta-minador evaluadas. N: Número de parasitoides que fueron medidos en sus tibias posteriores.

Sistema de Procedencia	Asociación planta - minador	N	Parasitoides Hembra Media ($\pm\text{EE}$)	Parasitoides Macho Media ($\pm\text{EE}$)
Haba-LH	Haba - <i>L. huidobrensis</i>	30	407.6 (± 38.1)	347.6 (± 36.1)
Haba-LH	Papa - <i>L. huidobrensis</i>	19	361.0 (± 39.5)	367.9 (± 35.7)
Haba-LH	Maíz - <i>L. graminivora</i>	30	319.1 (± 39.9)	298.1 (± 28.5)
Papa-LH	Haba - <i>L. huidobrensis</i>	30	359.0 (± 33.7)	346.7 (± 37.2)
Papa-LH	Papa - <i>L. huidobrensis</i>	18	302.9 (± 18.1)	314.3 (± 14.3)
Papa-LH	Maíz - <i>L. graminivora</i>	30	279.0 (± 34.1)	270.5 (± 21.9)
Maíz-LG	Haba - <i>L. huidobrensis</i>	30	332.4 (± 23.2)	342.9 (± 15.2)
Maíz-LG	Papa - <i>L. huidobrensis</i>	16	361.9 (± 39.2)	314.3 (± 0.0)
Maíz-LG	Maíz - <i>L. graminivora</i>	30	299.0 (± 42.3)	313.3 (± 22.6)

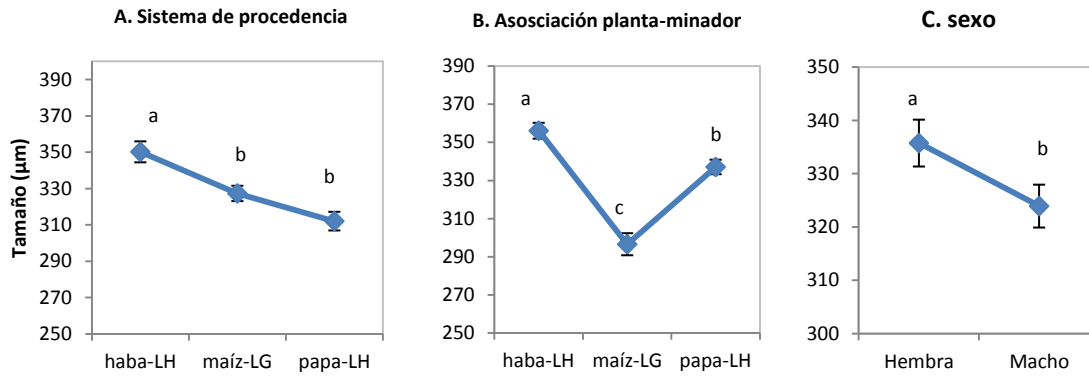


Figura N° 43 Tamaño promedio (µm) de tibias por sistema de procedencia (A), asociación planta-minador (B) y sexo (C) de hembras y machos de *C. flacilla*.

6 DISCUSION

Efecto del sistema de procedencia y la asociación planta-minador en la longevidad y supervivencia del adulto de *C. flacilla*

Nuestro estudio, muestra que en las pruebas de no elección independientemente de la procedencia del parasitoide, la longevidad y supervivencia fueron mayores sobre la asociación Haba – *L. huidobrensis* y Maíz – *L. graminivora* y siempre más corta cuando el parasitoide interactuó con la asociación Papa – *L. huidobrensis*. Es decir, la especie *C. flacilla* llegó a presentar una variación intraespecífica significativa en estos dos parámetros biológicos, debido a la asociación planta-minador en que se desarrolló su vida adulta.

Las diferencias de longevidad y supervivencia alcanzadas en cada asociación planta-minador (Haba – *L. huidobrensis*, Maíz – *L. graminivora* y Papa – *L. huidobrensis*) pueden tener como causa, tanto a la especie de minador como a la planta hospedera. Por el lado de los minadores, las diferencias entre especies (*L. huidobrensis* y *L. graminivora*) pudieron determinar dichas variaciones en los parámetros del parasitoide. Por el lado del primer nivel trófico, es decir la planta hospedera, la liberación de compuestos volátiles puede haber contribuido en la

variación del tiempo de vida del parasitoide. Al respecto, Mafi y Ohbayashi (2010) señalan que la longevidad y por ende la supervivencia de un parasitoide adulto, se ven afectadas por diversos factores como la nutrición por depredación del hospedero, la nutrición por presencia de una fuente de carbohidratos, la liberación de compuestos volátiles por parte de la planta que hospeda a la plaga, así como la temperatura a la que es expuesto el parasitoide.

En cuanto a la duración del tiempo de vida del adulto, nuestros resultados coinciden con el estudio de Ramírez (2008) quien estudió la longevidad y supervivencia de *C. flacilla* (criado en larvas de *L. huidobrensis* infestando plantas de haba) a diferentes temperaturas. Encontrando que la mortalidad se inició al tercer día a 30 °C, entre el cuarto y quinto día a 25 °C y entre el quinto y séptimo día a 20°C. En la literatura consultada no existen referencias de *C. flacilla* sobre los mismos parámetros biológicos en Maíz – *L. graminivora* y Papa – *L. huidobrensis*.

En las Pruebas de Elección, *C. flacilla* interactuó a la vez con tres asociaciones planta – minador donde, tanto la longevidad como la supervivencia cambiaron significativamente respecto a la procedencia del parasitoide, encontrándose niveles significativamente mayores de estos dos parámetros en los parasitoides de procedencia Papa – *L. huidobrensis*.

Efecto del sistema de procedencia y la asociación planta-minador en la producción de progeñe del adulto de *C. flacilla*

El adulto de *C. flacilla*, independientemente de su procedencia, logró ovipositar sobre las tres asociaciones planta – minador a las que fue expuesta y su descendencia pudo completar su desarrollo y emerger, tanto en las pruebas de elección como no elección.

En la prueba de No Elección, la descendencia de *C. flacilla* se vio afectada tanto por la procedencia del parasitoide como por la asociación planta-minador en la

que ovipositó. Con respecto a la procedencia del parasitoide se observó que aquellos nacidos de “Papa – *L. huidobrensis*” produjeron significativamente más progenie que los nacidos de “Haba – *L. huidobrensis*” y estos a su vez más que aquellos nacidos de “Maíz – *L. graminivora*”. Por ello, se puede mencionar que se encontró otro tipo de variación intraespecífica en *C. flacilla*; en este caso a nivel de la producción de progenie por efecto de su procedencia.

Esta variación intraespecífica, podría ser generada por la diferencia de especies de minador hospedero en el que fueron criados, en este caso *L. huidobrensis* y *L. graminivora*. Sin embargo, las variaciones entre las procedencias que comparten el mismo minador hospedero (haba-*L. huidobrensis* y papa-*L. huidobrensis*) fueron significativas. Por lo tanto se puede inferir que la especie de **planta hospedera fue la responsable de generar** parasitoides de *C. flacilla* con **este tipo de variación intraespecífica**. Es posible que durante el desarrollo de las fases inmaduras, *C. flacilla*, haya obtenido diferente calidad de alimentación y esto pueda haber tenido un efecto sobre el parasitoide hasta llegar a adulto. En términos generales, los parasitoides de *C. flacilla* que emergieron del minador *L. huidobrensis* produjeron significativamente más progenie que aquellos que emergieron del minador *L. graminivora*. Esto indica que *L. huidobrensis*, presente en papa y haba puede ser un hospedero más idóneo que *L. graminivora* para la crianza de *C. flacilla*.

También se encontró otro tipo de variación intraespecífica relacionado a la **asociación planta – minador** donde la mayor progenie **se recuperó** de Haba – *L. huidobrensis*, seguido de Maíz – *L. graminivora* y finalmente de Papa – *L. huidobrensis*. Es decir, que en las asociaciones planta – minador con cultivo alterno (las dos primeras) se recuperó significativamente mayor progenie que en la asociación Papa – *L. huidobrensis*, cultivo y plaga objetivo de este estudio. En términos de producción de progenie, en ningún caso, se encontró preferencia sobre la asociación planta - minador idéntica a la procedencia del parasitoide.

Es conocido que, la hemolinfa de los insectos hospederos es rica en proteínas e importante fuente de nutrientes, para muchos parasitoides hymenopteros hembra ya que generan un incremento en su fecundidad (Jervis y Kidd, 1986). Las asociaciones Haba – *L. huidobrensis* y Maíz – *L. graminivora* con las que interactuó *C. flacilla* siempre tuvieron disponible la misma cantidad de larvas hospederas *Liriomyza* sp, sin embargo no se han encontrado diferencias significativas en su producción de progenie, por ello se puede entender que para los parasitoides adultos de *C. flacilla* las diferencias a nivel de especie entre las larvas hospederas con las que interactuó en este estudio no tienen un efecto determinante sobre su progenie producida.

Por otro lado, también se determinó que *C. flacilla* puede variar su producción de progenie sobre un mismo minador hospedero, en este caso *L. huidobrensis*, aquí se pone en evidencia el efecto que tiene el primer nivel trófico, es decir la planta hospedera, sobre la progenie que puede producir el tercer nivel trófico, que es el parasitoide. Las diferencias que presentó *C. flacilla* en su producción de progenie al interactuar con papa y haba infestadas con *L. huidobrensis* podrían estar relacionadas al efecto positivo o negativo de la planta hospedera a causa de aspectos semioquímicos (alcoholes liberados por la planta), químicos o físicos en el parasitoide (Vinson & Iwanstch, 1980; Price et al., 1980; Barbosa & Letourneau, 1988; Vet & Dicke, 1992). Es decir, que aquellas plantas que son óptimas para un insecto herbívoro, como en el caso de las dos especies de *Liriomyza spp* evaluadas, podrían ser no idóneas para sus parasitoides debido a las toxinas o aleloquímicos que pueden producir (Barbosa y Benrey, 1998).

En las pruebas de Elección, la producción de progenie varió notoriamente para cada procedencia de parasitoide, así en el caso de los parasitoides de procedencia Haba – *L. huidobrensis* y Maíz – *L. graminivora*, dicha producción de progenie fue en promedio inferior a 10 individuos / hembra, muy diferente a lo

generado por los parasitoides de procedencia Papa – *L. huidobrensis* donde la producción de progenie alcanzo en promedio hasta casi los 90 individuos / hembra.

Nuestros resultados, muestran que no hubo preferencia de la hembra de *C. flacilla* por ovipositar en el sistema planta-minador correspondiente a su sistema de origen. Así, la hembra procedente del sistema **haba-*L. huidobrensis*** ovipositó el 41% de su progenie en la asociación maiz-*L. graminivora*, el 37.2% en haba-*L. huidobrensis* y el 21.8% en papa-*L. huidobrensis*. En el caso de la hembra procedente del sistema **papa-*L. huidobrensis*** el 61.4% de la progenie fue recuperado de la asociación maiz-*L. graminivora* y el 31.5% de haba-*L. huidobrensis*. Por último, en la hembra procedente del sistema **maiz-*L. graminivora*** el mayor porcentaje de la progenie fue para las asociaciones relacionados con *L. huidobrensis* en papa (52.9%) y haba (44.1%). Los resultados obtenidos en el último sistema de procedencia (maiz-*L. graminivora*) nos muestra la factibilidad de usar este sistema como fuente de parasitoides para el cultivo de papa dentro de un sistema de control biológico de conservación.

Por otro lado, pese a que las progenies producidas fueron bastante diferentes, siempre se mantuvo, en los tres casos, una proporción de progenie relativamente constante sobre la asociación Haba – *L. huidobrensis*, la cual estuvo entre el 30 - 40% de progenie. Este resultado es importante debido a que en las pruebas de No Elección, esta fue la asociación donde más progenie se produjo, lo que indica que para *C. flacilla* esta asociación representa, de entre las tres asociaciones, una de las más importantes para ovipositar. Lo que coincide con lo encontrado por Salvo & Valladares (2002), donde concluyeron que *V. faba* puede ser considerada como una de las plantas más idóneas para la crianza de *L. huidobrensis* y *C. flacilla*, entre otros parasitoides, por haber generado individuos de mayor tamaño y con una eficiente explotación de la biomasa (estudio realizado en la Argentina Central).

Finalmente, en este estudio se determinó que en el parasitoide *C. flacilla* no hubo influencia de las plantas donde fue criado ó procedencia del parasitoide sobre su performance biológica, por lo tanto, no habría dificultades en el control biológico de conservación por parte de *C. flacilla* en los cultivos de papa ya que a pesar de producir poca progenie sobre dicho cultivo, puede interactuar libremente con él, es decir, sin ningún tipo de influencia previa.

Efecto del sistema de procedencia y la asociación planta-minador en la proporción sexual y tamaño de tibia del adulto de *C. flacilla*

La **proporción sexual**, tanto en las Pruebas de No Elección como de Elección, muestran una cantidad de hembras siempre mayor que la de machos, ya sea por la procedencia del parasitoide como por asociación planta – minador con la que interactúa. Esto coincide con lo demostrado por Ramírez (2008) al evaluar la proporción sexual de *C. flacilla* sobre Haba – *L. huidobrensis* a diferentes temperaturas. Como se sabe la proporción de hembras, en términos de control biológico, es enormemente importante para conocer el impacto que puede tener el parasitoide sobre el insecto blanco, ya que, es mediante la oviposición de las hembras como se produce principalmente la reducción de la abundancia de la plaga (Ode y Heinz, 2002).

Nuestros resultados, muestran además que no hubo influencia del sistema de procedencia de la hembra de *C. flacilla*, pero si de la asociación planta-minador en la proporción sexual de la descendencia. Entre las tres asociaciones evaluadas, la asociación Papa – *L. huidobrensis* contiene al cultivo objetivo y la segunda asociación sería una fuente de la plaga, por lo tanto, con fines de control biológico de conservación sería recomendable utilizar las asociaciones Maíz – *L. graminivora* para generar buenos niveles de proporción de hembras de *C. flacilla* en campos de papa.

Respecto al tamaño de tibias, los individuos de *C. flacilla* nacidos de *L. huidobrensis* en Haba y Papa tuvieron un mayor tamaño que los nacidos de *L. graminivora* en Maíz. El tamaño corporal de los adultos del parasitoide emergidos de cada asociación planta-minador, fueron evaluados en función del tamaño de tibias (King, 1987; Greenberg *et al.*, 1995; Lampson *et al.*, 1996; Eben *et al.*, 2000; Salvo & Valladares, 2002), que se conoce como un parámetro biológico importante para evaluar la condición física (fitness) del parasitoide (Roitberg *et al.*, 2001). Para aquellos que son koinobiontes, como *C. flacilla*, el tamaño corporal de la progenie es a menudo influenciado por la especie de minador de la cual ha emergido (Visser, 1994; Salvo y Valladares, 2002).

De esta manera, la diferencia de tamaño corporal de *C. flacilla* sobre las distintas asociaciones planta – minador podría ser causado por la diferencia de tamaños larval entre *L. huidobrensis* y *L. graminivora* alcanzado en sus correspondientes plantas hospederas haba, papa y maíz. Aparentemente el primer minador tendría mayor tamaño que el segundo, dado que por lo general el tamaño de los parasitoides está relacionado directamente al tamaño del insecto hospedero (Salvo y Valladares, 2002; Abe *et al.*, 2005). Debido a que se presume que los insectos hospederos de mayor tamaño contienen más recursos y por tanto deberían ser relativamente más provechosos que los hospederos de menor tamaño (Nicol & Mackauer, 1999), se infiere, entonces, que *L. huidobrensis* en papa y haba es más adecuada o idónea que *L. graminivora* en maíz.

Con todo lo expuesto, se demuestra la variación intraespecífica en relación al tamaño del cuerpo que puede presentar el parasitoide *C. flacilla*. Esto coincide con lo encontrado por Salvo y Valladares (2002) al evaluar el efecto de cinco tipos diferentes de asociaciones planta – minador en el tamaño de *C. flacilla*, donde la asociación Haba – *L. huidobrensis* generó los parasitoides significativamente más grandes. En el mencionado estudio se atribuyó el tamaño que alcanzó la larva del minador hospedero

(*L. huidobrensis*) sobre una determinada planta (haba) como el factor responsable de la variación intraespecífica del tamaño del cuerpo de *C. flacilla*. Por lo tanto, en el presente estudio se puede atribuir el mismo factor como responsable de la variación del tamaño corporal, en función del tamaño de tibias, de *C. flacilla* cuando esta emerge de las asociaciones planta - minador: Haba – *L. huidobrensis*, Papa – *L. huidobrensis* y Maíz – *L. graminivora*, luego de la oviposición de los progenitores de las distintas procedencias. Se debe mencionar que el estudio realizado por Salvo y Valladares (2002) se basó en la colecta, por temporadas, de hojas de diferentes plantas hospederas presentes en campos de cultivo, para que emerjan distintas especies de parasitoides y luego evaluar su tamaño corporal. Por otro lado, en nuestro estudio sobre *C. flacilla* realizado en invernadero, al evaluar los tamaños de tibias se analizó una planta hospedera y un minador hospedero (Maíz – *L. graminivora*) no incluidos en el estudio de Salvo y Valladares (2002), así como una mayor cantidad de parasitoides (Ver Tabla Nº 4), que los analizados por Salvo y Valladares (2002), quienes evaluaron hasta 50 individuos.

Finalmente, las diferencias entre los tamaños de la hembra y el macho de *C. flacilla* encontrados en el presente trabajo coinciden con lo hallado por Salvo & Valladares (1995) para la misma especie de parasitoide en la zona central de Córdoba, Argentina, donde también figura un tamaño significativamente mayor de la hembra sobre el macho, algo que suele ser usual en esta especie (Salvo y Valladares, 1995).

7 CONCLUSIONES

- El parasitoide *C. flacilla* no desarrolla preferencia, en términos de producción de progenie, por la asociación planta – minador que es idéntica a su procedencia.
- La longevidad y supervivencia de *C. flacilla* dependen de la asociación planta – minador con la que interactúe, más no de su procedencia.
- La proporción sexual de *C. flacilla*, no puede ser afectada por la procedencia del parasitoide, pero si por la asociación planta – minador con la que interactúa el parasitoide.
- El tamaño corporal de *C. flacilla*, en función del tamaño de tibias posterior, dependen de la asociación planta – minador con la que interactúe, más no de su procedencia.
- En términos de reproducción, los minadores *L. huidobrensis* y *L. graminivora* son hospederos adecuados de *C. flacilla*, siempre que se desarrollen *V. faba* y *Z. mays* respectivamente.
- Las asociaciones planta minador *V. faba* – *L. huidobrensis* y *Z. mays* – *L. graminivora* son las más adecuadas para la cría masiva de *C. flacilla*.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abe Y., T. Takeuchi, S. Tokumaru & J. Kamata. 2005. Comparison of the suitability of three pest leafminers (Diptera: Agromyzidae) as hosts for the parasitoid *Dacnusa sibirica* (Hymenoptera: Braconidae). European Journal of Entomology (Czech Republic). 102 (4): 805-807.

Bai, B., & S.M. Smith. 1993. Effect of host availability on reproduction and survival of the parasitoid wasp *Trichogramma minutum*. Ecological Entomology. 18(4): 279-286.

Banchio, E., G. Valladares, M. Defago, S. Palacios & C. Carpinella. 2003. Effects of *Melia azedarach* (Meliaceae) fruit extracts on the leafminer *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae): assessment in laboratory and field experiments. Ann. Appl. Biol. 143: 187-193.

Banchio, E., G. Valladares, J. Zygadlo, P.C. Bogino, L.V. Rinaudi & W. Giordano. 2007. Changes in composition of essential oils and volatile emissions of *Mintostachys mollis*, induced by leaf punctures of *Liriomyza huidobrensis*. Biochemical systematics and ecology. 35(2): 68-74.

Barbosa P. & B. Benrey. 1998. Conservation biological control. Academic Press. 55pp.

Barbosa P. & D. K. Letourneau. 1988. Novel aspects of insect-plant interactions. John Wiley & Sons. 19pp

Chen, B. & L. Kang. 2004. Variation in cold hardiness of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) along latitudinal gradients. Environmental entomology. 33(2): 155-164.

Cisneros F. 1995. Control de plagas agrícolas. 2da ed.120pp.

Cisneros F. & N. Mujica. 1997. Developing IPM components for leafminer fly in the Cañete Valley of Peru. En: International Potato Center Program report 1995-96. Lima. Pp. 177-184.

Cisneros F. & N. Mujica. 1998. The leafminer fly in potato: plant reaction and natural enemies as natural mortality factors. En: CIP Program Report. Lima.

De Moraes C. M., M. Mescher & J.H. Tumlinson. 2001. Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. *Nature*. 410(6828): 577-580.

Dicke M. 1999. Are herbivore-induced plant volatiles reliable indicators of herbivore identity to foraging carnivorous arthropods?. En: Proceedings of the 10th International Symposium on Insect-Plant Relationships. Springer Netherlands. 131-142.

Dicke M. & O. P. Minkenberg. 1991. Role of volatile infochemicals in foraging behavior of the leafminer parasitoid *Dacnusa sibirica* (Diptera: Agromyzidae). *Journal of insect behavior*. 4(4): 489-500.

Eben A., B. Benrey, J. Sivinski & M. Aluja. 2000. Host species and host plant effects on preference and performance of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Environmental Entomology*. 29 (1): 87-94.

Edwards P. B. 1999. The use of choice tests in host-specificity testing of herbivorous insects. *Host Specificity Testing in Australasia: Towards Improved Assays for Biological Control*. Cooperative Research Centre for Tropical Pest Management, Brisbane, Australia, 35-43.

Gil-Ortiz R., M. Martinez & R. Jimenez-Peydro. 2010. New species records of Agromyzidae (Diptera) from Spain. *Journal of Entomological Science*. 45(2): 91-105.

- Greenberg S. M., J.A. Morales-Ramos, E.G. King & K.R. Summy. 1995. Biological parameters for mass propagation of *Catolaccus grandis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Environmental entomology*. 24(5): 1321-1327.
- Jervis M. A. & N. A. C. Kidd. 1986. Host-feeding strategies in hymenopteran parasitoids. *Biological Reviews*. 61(4): 395-434
- Johnson M., E.R. Oatman, J.A. Wyman & R.A. Van Steenwyk. 1980. A technique for monitoring *Liriomyza sativae* in fresh market tomatoes. *Journal of economic entomology*. 73 (4): 552-555.
- Keller M. A. & Baker G.. 2002. Impact of conservation biological control practices on natural enemies: a case study of diamondback moth and its parasitoids. En: First International Symposium on Biological Control of Arthropods. Hawaii, USA, 14 -18.
- King, B. H. 1987. Offspring sex ratios in parasitoid wasps. *Quarterly review of Biology* 367-396.
- Korytkowski C. 1982. Contribución al conocimiento de Agromizadae (Diptera: Acalyptratae) en el Perú. Tesis, Magister en ciencias. Facultad de Ciencias Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Lampson L. J., J. G. Morse & R. F. Luck. 1996. Host selection, sex allocation, and host feeding by *Metaphycus helvolus* (Hymenoptera: Encyrtidae) on *Saissetia oleae* (Homoptera: Coccidae) and its effect on parasitoid size, sex, and quality. *Environmental Entomology*. 25(2): 283-294.

Landis D. A., S. D. Wratten & G. M. Gurr. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual review of entomology*. 45(1): 175-201.

Liu T. X., L. Kang, K. M. Heinz & J. Trumble. 2009. Biological control of *Liriomyza leafminers*: progress and perspective. *Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*. 4(4): 1-16.

MacDonald O. C. 1991. Responses of the alien leaf miners *Liriomyza trifolii* and *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) to some pesticides scheduled for their control in the UK. *Crop protection*. 10(6): 509-513.

Mafi S. & N. Ohbayashi. 2010. Biology of *Chrysocharis pentheus*, an Endoparasitoid Wasp of the Citrus Leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton. *Journal of Agricultural Science and Technology* 12: 145-154.

Martin A. D., D. Stanley-Horn & R. H. Hallett. 2005. Adult host preference and larval performance of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) on selected hosts. *Environmental entomology*. 34(5): 1170-1177.

Minkenberg O. P. & J. C. van Lenteren. 1986. The leafminers *Liriomyza bryoniae* and *L. trifolii* (Diptera: Agromyzidae), their parasites and host plants: a review. *Agricultural University Wageningen Papers* 86(2).

Mujica N. & J. Kroschel. 2005. Developing IPM components for leafminer fly in the Cañete Valley of Peru. En: *Area-Wide Control of Insect Pests*, Vienna. Pp. 164-165.

Mujica N. & J. Kroschel. 2011. Leafminer fly (Diptera: Agromyzidae) occurrence, distribution, and parasitoid associations in field and vegetable crops along the Peruvian coast. *Environmental Entomology*. 40(2): 217-230.

Mujica N, P. Weintraub, V. Hualla & C. Prudencio. 2011. Distribución y diversidad de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Diptera:Agromizidae) en hospederos cultivados en la costa del Perú. En: Resúmenes de la Convención Nacional de Entomología. Arequipa. Pp.61.

Murphy S. T. & J. LaSalle. 1999. Balancing biological control strategies in the IPM of New World invasive *Liriomyza leafminers* in field vegetable crops. Biocontrol News and Information. 20: 91-104.

Nicol C. M. Y. & M. Mackauer. 1999. The scaling of body size and mass in a host-parasitoid association: influence of host species and stage. Entomologia experimentalis et applicata. 90(1): 83-92.

Ode P. J. & K. M. Heinz. 2002. Host-size-dependent sex ratio theory and improving mass-reared parasitoid sex ratios. Biological Control. 24(1): 31-41.

Ostrauskas H., S. Pakalniškis & L. Taluntytė. 2005. Dipterous miners collected in greenhouse areas in Lithuania. Ekologija 2: 22-28.

Paredes D., M. Campos & L. Cayuela. 2013. El control biológico de plagas de artrópodos por conservación: técnicas y estado del arte. Revista Ecosistemas. 22(1): 56-61.

Park K. C., S. A. Ochieng, J. Zhu & T.C. Baker. 2002. Odor discrimination using insect electroantennogram responses from an insect antennal array. Chemical senses. 27(4): 343-352.

Parkman P., J. A. Dusky & V. H. Waddill. 1989. Leafminer and leafminer parasitoid incidence on selected weeds in South Florida. Florida Entomologist. 559-561.

Parrella M. P. 1987. Biology of *Liriomyza*. Annual Review of Entomology. 32(1): 201-224.

Parrella M. P., C. B. Keil & J. G. Morse. 1984. Insecticide resistance in *Liriomyza trifolii*. California Agriculture. 38(1/2): 22-23.

Petitt F. L., T.C.J. Turlings & S. P. Wolf. 1992. Adult experience modifies attraction of the leafminer parasitoid *Opius dissitus* (Hymenoptera: Braconidae) to volatile semiochemicals. Journal of Insect Behavior. 5(5): 623-634.

Price P. W., C. E. Bouton, P. Gross, B.A. McPheron, J. N. Thompson & A.E. Weis. 1980. Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. Annual review of Ecology and Systematics. 41-65.

Raffa, K. F., N. P. Havill & E. V. Nordheim. 2002. How many choices can your test animal compare effectively? Evaluating a critical assumption of behavioral preference tests. Oecologia. 133(3): 422-429.

Ramirez M. L. 2008. Efecto de la temperature sobre el desarrollo, longevidad y fecundidad de *Chrysocharis flacilla* Walker(Hym:Eulophidae) parasitoide de *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Dip: Agromyzidae), "Mosca minadora de la papa". Tesis, biólogo. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Agraria La Molina.

Rauf A., B. M. Shepard & M. W. Johnson. 2000. Leaf-miners in vegetables, ornamental plants and weeds in Indonesia: surveys of host crops, species composition and parasitoids. International Journal of Pest Management 46: 257-266.

Raven K. 1993. Orden Diptera III: Aschiza y Acaliptratae. Departamento de Entomología, Universidad Nacional Agraria La Molina. 144 pp.

Redolfi de Huiza, I., M. Palacios & J. Alcazar. 1985. Hymenoptera parasitoides de *Liriomyza huidobrensis* en papa cultivada en Rímac, Cañete e Ica. Revista Peruana de Entomología. 28: 19-21.

Roitberg B. D., G. Boivin & L. E. M. Vet. 2001. Fitness, parasitoids, and biological control: an opinion. The Canadian Entomologist. 133(03): 429-438.

Rutledge, C. E. & R. N. Wiedenmann. 1999. Habitat preferences of three congeneric braconid parasitoids: implications for host-range testing in biological control. Biological control. 16(2): 144-154.

Salazar M. 2008. Ocurrencia estacional de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* Blanchard y sus himenopteros parasitoides en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L) en los sistemas de producción orgánica y convencional. Tesis, biólogo. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Agraria La Molina.

Salvo A. 1996. Diversidad y estructura de las comunidades de parasitoides (Hymenoptera) de minadores de hoja (Diptera: Agromyzidae). Tesis, Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba.

Salvo, A. & G. Valladares. 1995a. Complejo parasítico (Hymenoptera: Parasitica) de *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) en haba. Agriscientia. 12.

Salvo, A. & G. Valladares. 1995b. Intraspecific size variation in polyphagous parasitoids (Hymenoptera: Parasitica) of leafminers and its relation to host size. Entomophaga. 40(2): 273-280.

Salvo A. & G. Valladares. 2002. Plant-related intraspecific size variation in parasitoids (Hymenoptera: Parasitica) of a polyphagous leafminer (Diptera: Agromyzidae). *Environmental entomology*. 31(5): 874-879.

Scheffer S. & M. Lewis. 2001. Two nuclear genes confirms mitochondrial evidence of cryptic species within *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 94(5): 648-653.

Schmale I., F. L. Wäckers, C. Cardona & S. Dorn. 2001. Control potential of three hymenopteran parasitoid species against the bean weevil in stored beans: the effect of adult parasitoid nutrition on longevity and progeny production. *Biological Control*. 21(2): 134-139.

Shepard B. M. & S. A. R. Braun. 1998. Seasonal incidence of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoids on vegetables in Indonesia. *International Journal of Pest Management*. 44(1): 43-47.

Smid H. M., J. J. van Loon, M. A. Posthumus & L. E. Vet. 2002. GC-EAG-analysis of volatiles from Brussels sprouts plants damaged by two species of *Pieris caterpillars*: olfactory receptive range of a specialist and a generalist parasitoid wasp species. *Chemoecology*. 12(4): 169-176.

Spencer K. A. 1973. *Agromyzidae* (Diptera) of economic importance (Vol. 9). Springer. 64pp.

Turlings T. C. & F. Wäckers. 2004. Recruitment of predators and parasitoids by herbivore-injured plants. *Advances in insect chemical ecology*. 2: 21-75.

van der Linden A. 1992. *Phytomyza caulinaris* Hering, an alternative host for the development of an open rearing system for parasitoids of *Liriomyza species*. *P. Sec. Exp. Appl. Entomol. Neth. Ent. Soc.* 3: 31-39.

- Vet L. E. & M. Dicke. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual review of entomology*. 37(1): 141-172.
- Vinson S. B. & G. F. Iwantsch. 1980. Host suitability for insect parasitoids. *Annual review of entomology*. 25(1): 397-419.
- Visser J. H. 1986. Host odor perception in phytophagous insects. *Annual review of entomology*. 31(1): 121-144.
- Visser M. E. 1994. The importance of being large: the relationship between size and fitness in females of the parasitoid *Aphaereta minuta* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Animal Ecology*. 963-978.
- Weintraub P. G. & A. Horowitz. 1998. Effects of translaminar versus conventional insecticides on *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) and *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae) populations in celery. *Journal of economic entomology*. 91(5): 1180-1185.
- Wei J., L. Zou, R. Kuang & L. He. 2000. Influence of leaf tissue structure on host feeding selection by pea leafminer *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). *Zool. Stud.* 39: 295-300.
- Wei J. N. & L. Kang. 2006. Electrophysiological and behavioral responses of a parasitic wasp to plant volatiles induced by two leaf miner species. *Chemical senses*. 31(5): 467-477.
- Wei J., L. Wang, J. Zhu, S. Zhang, O. I. Nandi & L. Kang. 2007. Plants attract parasitic wasps to defend themselves against insect pests by releasing hexenol. *PLOS one*. 2(9): 852.

Zhao Y. X. & L. Kang. 2002. Role of plant volatiles in host plant location of the leafminer, *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). Physiological entomology. 27(2): 103-111.